ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ «НАЦИОНАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ЗЕРНА ИМЕНИ П.П. ЛУКЬЯНЕНКО»

На правах рукописи

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

Диссертация
на соискание ученой степени
доктора биологических наук

Научный консультант
академик РАН, д.с.-х.н.,
профессор Л.А. Беспалова

Краснодар 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ……7

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ……..21

1.1 Происхождение мягкой пшеницы (*T. aestivum)*……21

1.2 Биологические и генетические особенности мягкой пшеницы……23

1.3. Использование генофонда диких сородичей для улучшения мягкой пшеницы.24

1.3.1 Передача ценных признаков от видов рода *Triticum* ……..27

1.3.1.1. Передача ценных признаков от *Triticum timopheevii* ……..28

1.3.2. Передача ценных признаков от видов рода *Aegilops* ……32

1.3.2.1. Передача генов устойчивости к листовой ржавчине от *Ae. tauschii* ……..33

1.3.2.2. Передача ценных признаков от *Ae. speltoides* ……..36

1.3.3. Передача ценных признаков от видов рода *Agropyron* ……..39

1.3.4. Передача ценных признаков от видов рода *Secale* ……43

1.4. Методы переноса генетического материала от диких сородичей ……...47

1. 4.1. Передача чужеродного генетического материала путём создания амфидиплоидов и получения дополненных и замещенных линий……..48

1.5. Практическое применение чужеродных интрогрессий и их влияние на морфологические признаки и биологические свойства мягкой пшеницы……51

1.6. Цитологические и цитогенетические методы изучения хромосомных перестроек в геноме пшеницы……54

1.7. Генетические маркеры в изучении мягкой пшеницы ……...58

1.7.1. ДНК-маркеры и значение методов молекулярного картирования……60

1.7.2. Основные виды ДНК-маркеров ……61

1.7.3. Методы селекции, основанные на использовании ДНК-маркеров ……..66

1.8. Применение диагностических ДНК-маркеров для идентификации ценных признаков мягкой пшеницы. ……..73

1.8.1. ДНК-маркеры, сцепленные с генами устойчивости пшеницы к возбудителю листовой ржавчины…….....73

1.8.2. ДНК-маркеры, сцепленные с локусами, определяющими чувствительность к фотопериоду и потребность в яровизации ……. ….77

1.8.3. ДНК-маркеры, сцепленные с локусами, контролирующими высоту растений…….80

1.8.4. ДНК-маркеры, сцепленные с локусами, определяющими качество зерна пшеницы……84

1.8.4.1. ДНК-маркеры, сцепленные с локусами, определящими состав запасных белков ……84

1.8.4.2. ДНК-маркеры, сцепленные с генами, детерминирующими состав крахмала.....88

1.8.4.3. ДНК-маркеры, сцепленные с признаком твёрдозёрности пшеницы……..90

1.8.4.4. ДНК-маркеры, сцепленные с локусами, определяющими активность полифенолоксидазы……..91

1.8.4.5. ДНК-маркеры, сцепленные с локусами, определяющими активность липоксигеназы ……..92

1.8.4.6. ДНК-маркеры, сцепленные с локусом, определяющим высокое содержание белка……...92

1.9. Достижения в улучшении мягкой пшеницы, связанные с применением MAS и перспективы применения ДНК-маркеров в селекции растений ….....93

2. УСЛОВИЯ, МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ …….102

2.1. Растительный материал ……102

2.1.1. Характеристика применяемых гексаплоидных синтетических форм…….103

2.2. Метод передачи чужеродного генетического материала ……...106

2.3. Методы оценки и отбора перспективных линий……..106

2.4. Гибридологический анализ устойчивости пшеницы к листовой ржавчине…..109

2.5. Цитологические методы исследований……109

2.6. Метод дифференциального окрашивание хромосом (C-banding)……110

2.7. Генотипирование методом FISH ……...110
2.8. Молекулярные методы анализа…….....111
2.8.1. Метод выделения геномной ДНК из растений ……111
2.8.2. Применение ДНК-маркеров для выявления генов хозяйственно-ценных признаков мягкой пшеницы ……112
2.9. Методы статистического анализа данных……115
3. СЕЛЕКЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ИНТРОГРЕССИВНЫХ ЛИНИЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ ……116
3.1. Хозяйственно-биологическая оценка интрогрессивных линий…….....117
3.1.1. Устойчивость интрогрессивных линий к болезням…….....117
3.1.2. Изучение интрогрессивных линий по устойчивости к листовой ржавчине...123
3.1.2.1. Оценка устойчивости линий к листовой ржавчине……125
3.1.2.2. Гибридологический анализ устойчивости линий к листовой ржавчине…..128
3.1.3. Оценка интрогрессивных линий по морфологическим признакам и биологическим свойствам……..134
3.1.3.1. Оценка интрогрессивных линий по элементам продуктивности……..142
3.1.3.2. Оценка интрогрессивных линий по содержанию белка и клейковины…...145
3.1.3.3. Оценка интрогрессивных линий по технологическим свойствам и хлебопекарным качествам ……150
Заключение к главе 3.1..…….....154
3.2. Цитологические, цитогенетические и молекулярно-цитологические методы изучения интрогрессивных линий …….....156
3.2.1. Цитологическая стабильность интрогрессивных линий..……157
3.2.2. Определение формы передачи генетического материала *T. miguschovae, Ae. speltoides, Ae. umbellulata, Ae. tauschii* в интрогрессивных линиях…….....159
3.2.3. Изучение интрогрессивных линий методом дифференциальной окраски хромосом……167

3.2.4. Генотипирование интрогрессивных линий мягкой пшеницы методами FISH (флуоресцентной *in situ* гибридизации) ……..174
Заключение к главе 3.2……..181
3.3. Применеие ДНК-маркеров для изучения аллельного разнообразия интрогрессивных линий по генам хозяйственно ценных признаков……....183
3.3.1. Идентификации генов устойчивости к листовой ржавчине……183
3.3.1.1. Идентификация ДНК-маркеров, сцепленных с генами устойчивости к листовой ржавчине в образцах видов рода *Aegilops* и синтетических формах Авролата, Авродес и *T. miguschovae* ……...184
3.3.1.2. Идентификация ДНК-маркеров, сцепленных с генами устойчивости к листовой ржавчине в интрогрессивных линиях мягкой пшеницы……....190
3.3.2. Изучение аллельных вариантов генов короткостебельности у интрогресивных линий мягкой пшеницы ……198
3.3.3. Изучение интрогрессивных линий мягкой пшеницы по аллельным вариантам *Wx*-генов……..205
3.3.4. Изучение аллельного разнообразия генов *Vrn-1* и *Ppd-1* в интрогрессивных линиях мягкой пшеницы……211
3.3.4.1. Оценка аллельного разнообразия генов *Vrn-1* в интрогрессивных линиях мягкой пшеницы……211
3.3.4.2. Изучение аллельного состояния генов *Ppd-D1* в интрогрессивных линиях мягкой пшеницы……216
Заключение к главе 3.3……...219
4. ПРИМЕНЕНИЕ MAS ДЛЯ СОЗДАНИЯ ИСХОДНОГО МАТЕРИАЛА МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ С ЗАДАННЫМИ КАЧЕСТВАМИ **…**……222
4.1. Использование молекулярных маркеров в селекции пшеницы на устойчивость к листовой ржавчине……223

4.1.1. Генотипирование сортов мягкой пшеницы на присутствие ДНК-маркеров, сцепленных с генами устойчивости к листовой ржавчине……225
4.1.2. Передача генов *Lr9*, *Lr19*, *Lr24* и *Lr37* в сорта мягкой пшеницы посредством маркер контролируемого беккросса…….227
4.1.3. Создание исходного материала с объединением нескольких генов устойчивости к листовой ржавчине…….....238
4.2. Передача локусов специфической устойчивости к фузариозу колоса …….....242
4.3. Передача нуль-аллелей генов *Wx* в сорта мягкой пшеницы……...248
4.4. Изучение аллельного состава генов *Vrn-1* и *Ppd-1* у линий мягкой пшеницы..257
Заключение к главе 4…….....263
5. СОЗДАНИЕ НОВЫХ СОРТОВ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ ДАНКО, КУЛИЧ, ВЫЗОВ …….....264
5.1. Общая характеристика …….....265
5.2. Сроки созревания и продолжительность вегетационного периода у новых сортов мягкой пшеницы……267
5.3. Показатели продуктивности …….....268
5.4. Мукомольные и хлебопекарные качества ……269
5.5. Устойчивость к основным болезням мягкой пшеницы……...271
5.6. Генотипирование с применением ДНК-маркеров, сцепленных с ценными для мягкой пшеницы генами……....273
Заключение к главе 5…….....278
ЗАКЛЮЧЕНИЕ……280
ВЫВОДЫ……...286
РЕКОМЕНДАЦИИ ДЛЯ ПРАКТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ……289
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ……291
ПРИЛОЖЕНИЕ…….....358

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы. Пшеница одна из важнейших сельскохозяйственных культур, изучение которой представляет большой практический интерес. Растущий мировой спрос на зерно пшеницы основан на способности получать из этой культуры уникальные пищевые продукты и значительном увеличении их потребления.

Основным видом пшеницы, распространённым во всем мире, является мягкая пшеница (*Triticum aestivum* L.). Сегодня перед сельским хозяйством стоит беспрецедентная задача, которая заключается в увеличении производства зерна пшеницы, обусловленная ростом населения планеты. Для её выполнения урожайность пшеницы должна увеличиваться примерно на 2% в год в то время как текущий рост урожайности во всем мире составляет всего 0,9% (Le Gouis et al., 2020). Эта цель достижима на фоне благоприятных условий выращивания, но менее вероятна при изменении климата, которое оказывает влияние не только на урожайность, но и на ее стабильность (Tester & Langridge, 2010). В этом контексте селекция сортов пшеницы, обладающих устойчивостью к биотическим и абиотическим стрессам имеет решающее значение и, следовательно, является приоритетом для сельского хозяйства.

Генетической основы мягкой пшеницы недостаточно для решения этой задачи поскольку современные методы селекции привели к значительному её сужению. В особенности это касается генов устойчивости к болезням, ограничение разнообразия которых является одним из основных лимитирующих факторов селекции. Таким образом, высоким стратегическим приоритетом улучшения пшеницы во всём мире является обогащение культивируемых сортов путём включения благоприятных аллелей, генов или генных комплексов. Этого можно достичь путём интрогрессии нового разнообразия из различных генофондов, связанных с пшеницей.

На сегодняшний день известно о передаче новых аллелей более чем 50 видов из 13 родов, что подчёркивает важность чужеродных интрогрессий для селекции

пшеницы (Wulff & Moscou, 2014). Некоторые из таковых получили широкое распространение во всём мире, например, ржаная транслокация 1RS.1BL, которую можно обнаружить в 10% мирового генетического разнообразия пшеницы (Balfourier et al., 2019).

Однако, такая работа часто осложняется тем, что у большинства сородичей гомеологичные хромосомы не способны конъюгировать с таковыми у пшеницы. Следовательно, ценные признаки от них не могут быть переданы путем прямого скрещивания. Таким образом, для таких видов необходимо использование специальных приемов хромосомной инженерии с тем, чтобы их генетическое разнообразие преобразовать в форму, доступную для традиционной селекции (Sears, 1972; Knott, 1987; Feldman, 1988). Одним из таких методов является создание синтетических геномно-замещенных, геномно-добавленных и рекомбинантных форм, которые используются в качестве «мостиков» для передачи мягкой пшенице генетического материала от дикорастущих сородичей (Жиров, Терновская, 1984; Давоян и др., 2012). Применение синтетических форм в качестве источников расширения генетической изменчивости мягкой пшеницы имеет большое теоретическое и практическое значение. Всестороннее изучение полученных с их применением интрогрессивных линий, с помощью цитологических и молекулярных методов исследования позволит определить закономерности передачи чужеродной генетической информации мягкой пшенице и наиболее приемлемые пути их использования в селекционной практике.

Сегодня уже совершенно очевидно, что дальнейший прогресс в селекции сельскохозяйственных культур и, в частности, пшеницы неразрывно связан с использованием современных методов биотехнологии: геномные, хромосомные, клеточные, ДНК-технологии. Их применение существенно расширяет возможности традиционной селекции и ускоряет создание новых сортов. Благодаря успехам, достигнутым методами классической селекции, в прошлом удалось в значительной степени увеличить рост производства пшеницы. Однако в течении последних

десятилетий, показатели её урожайности растут незначительно и этот факт вызывает обеспокоенность у всего мирового сообщества (Gupta et al. 2008c). Главной причиной является трудность достижения дальнейших генетических улучшений методами классической селекции. Во многом это связано с отсутствием знаний о генетической структуре наиболее сложных признаков, включая урожайность и устойчивость к абиотическим стрессам. Еще одна причина заключается в отсутствии эффективного отбора этих признаков. Следовательно, для достижения успеха в селекции пшеницы необходимо привлекать альтернативную технологию в дополнение к классическим методам.

Использование ДНК-маркеров открывает широкие возможности для эффективного решения различных задач современной селекции растений, таких как сохранение и поддержание генетических коллекций, изучение генетического разнообразия, подбор исходных родительских форм, контроль переноса хозяйственно-ценных генов в сорта сельскохозяйственных культур, картирование и клонирование новых генов, генетический мониторинг, паспортизация и классификация сортов, защита интеллектуальных прав селекционеров и др.

Интеграция ДНК-маркеров в классическую селекцию привела к появлению нового направления - маркер-опосредованной селекции (MAS - marker assisted selection). Следует отметить, что MAS в настоящее время является неотъемлемой частью селекционной работы во многих иностранных научных центрах, крупных селекционных фирмах и компаниях.

Таким образом, сочетание традиционных методов селекции с геномными инструментами и подходами позволит вывести селекцию растений на новый этап. В этом контексте новая парадигма будет иметь важное значение для создания более эффективных сортов мягкой пшеницы, которые, согласно прогнозам ФАО (Продовольственная и сельскохозяйственная организация ООН), необходимы для новой «зеленой революции» и удовлетворения потребностей растущего населения Земли и сохранения при этом природных ресурсов.

Степень разработанности темы. Начиная со второй половины XX века, дикие сородичи широко используются в селекции мягкой пшеницы в качестве источников ценных признаков. Однако и на сегодняшний день улучшение мягкой пшеницы за счет богатого генофонда дикорастущих видов остается одним из наиболее актуальных направлений селекции этой культуры.

Для того, чтобы преобразовать этот потенциал в форму доступную для мягкой пшеницы и, соответственно, облегчить перенос генетического материала от этих видов, в отделе биотехнологии НЦЗ им. П.П. Лукьяненко были созданы уникальные синтетические гексаплоидные формы. Геномно-добавленная форма *T. miguschovae* (GGAADD) у которой геном D от *Aegilops tauschii* был добавлен к геномам AG *T. militinae* и не имеющие аналогов геномно-замещенные формы Авродес, Аврозис, Авролата, Авротата, Авроале, Аврокум, у которых геном D мягкой пшеницы был замещен, соответственно, на геномы от *Ae. speltoides*, *Ae. sharonensis*, *Ae. umbellulata*, *Ae. uniaristata*, *S. cereale* и *Ag. glaucum* (Жиров, 1980; Жиров, Терновская, 1984). На основе геномно-замещенных форм получены рекомбинантные синтетические формы RS1(AAGBDS), RS6 (BBAADS) и RS7 (BBAAUS), с замещением генома D мягкой пшеницы на смешанный (рекомбинантный) геном от двух дикорастущих видов (Давоян и др., 2012).

С применением этих форм получено большое число интрогрессивных линий озимой мягкой пшеницы, которые отличаются устойчивостью к болезням, высоким содержанием белка в зерне и другими интересными для селекции морфологическим признакам и биологическим свойствам. Более того, на их основе в отделе селекции и семеноводства пшеницы и тритикале Национального центра зерна созданно пять сортов мягкой пшеницы Жировка, Фишт, Восторг, Ростислав, Гром. Для более полного и эффективного использования полученных линий в качестве доноров полезных для мягкой пшеницы признаков назрела потребность их всестороннего изучения. Знание цитогенетических особенностей новых линий, изучение их характеристик в

отношении ценных хозяйственно-биологических признаков сделает более целенаправленным их использование в селекции мягкой пшеницы.

Использование ДНК-маркеров существенно расширяет возможности традиционной селекции и значительно ускоряет создание новых сортов. Работы с молекулярными маркерами в НЦЗ им. П.П. Лукьяненко ведутся с 2004 г. по двум основным направлениям: 1) идентификация генов хозяйственно-ценных признаков в интрогрессивных линиях с генетическим материалом, переданным от диких сородичей; 2) MAS, направленная на создание сортов пшеницы с заданными качествами. Основными объектами работы являются гены, детерминирующие устойчивость к болезням (*Lr*, *Sr*, *Yr*), контролирующие высоту растений (*Rht*), чувствительность к фотопериоду (*Ppd*), потребность в яровизации (*Vrn*), определяющие состав крахмала (*Wx*). Совместно с отделом селекции и семеноводства пшеницы и тритикале проводится передача эффективных в условиях Краснодарского края генов устойчивости к листовой ржавчине *Lr9*, *Lr19*, *Lr24*, *Lr37*, а также нуль-аллелей генов *Wx-A1*, *Wx-B1*, *Wx-D1* (определяющих состав крахмала) в сорта мягкой пшеницы селекции НЦЗ им. П.П. Лукьяненко. В рамках данных направлений проводятся: анализ исходного материала, отбор на целевые гены с помощью ДНК-маркеров на всех этапах, начиная с F_2, маркер-опосредованный беккросс и пирамидирование генов. Кроме того, ежегодно проводится скрининг различного селекционного материала (коллекционные образцы, сорта, селекционные линии и др.) на присутствие ДНК-маркеров, сцепленных с генами: *Lr*, *Sr*, *Yr*, *Pm*, *Rht*, *Vrn*, *Ppd* и *Wx*.

Цель и задачи исследования. Основной целью настоящего исследования являлось создание нового, генетически разнообразного исходного материала для селекции мягкой пшеницы на основе методов хромосомной инженерии и ДНК-маркирования.

Для достижения цели исследования 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.

Фундаментальная научная проблема. Получение высоких и стабильных урожаев с/х культур, в том числе и злаковых, напрямую связано с созданием новых высокопродуктивных, высокоадаптивных и устойчивых к биотическим и абиотическим стрессам сортов. Успешное решение этих задач в первую очередь основывается на наличии достаточного генетического разнообразия, которое в процессе доместикации, аллополиплоидизации и селекции было в значительной степени обеднено. В то же время, применяемые ранее методы не позволяли раскрыть

все разнообразие культурных видов и их диких сородичей. Новые знания о механизмах передачи чужеродного хроматина в геном мягкой пшеницы, информация о выявленных генах, играющих ключевую роль в формировании ряда ценных признаков, не только расширяет знания о происхождении, эволюции, филогенетических связях различных видов и их геномов, но и открывают новые возможности для селекционной практики.

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

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 хозяйственно-биологическим 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.

Цитологическими (изучение конъюгации хромосом в метафазе I мейоза), цитогенетическими (C-banding) и молекулярно- цитогенетическими (FISH) методами выявлено, что передача генетического материала от синтетических форм может осуществляться как посредством транслокаций и замещения целых хромосом, так и их комбинаций. В линиях, несущих генетический материал от *T. miguschovae*, идентифицированы транслокации T2BL.2BS-2GL, 5BS.5BL-5GL, T6BS.6BL-6GL от *T. timopheevii* и замещенные хромосомы 1D(1D^t), 4D(4D^t), 5D(5D^t) и 6D(6D^t) от *Ae.*

tauschii. Замещения по хромосомам 4D(4D^t), 5D(5D^t) и 6D(6D^t) выявлены впервые. Большинство линий, полученных с участием синтетической формы Авродес, несут транслокации T2D, T5D и T5BS.5BL-5SL. Выявлены ранее не известные транслокации от *Ae. speltoides* T1D, T2A, T2D, T5D, T6DL и замещение хромосомы 1B(1S). Впервые получены и изучены интрогрессивные линии на основе синтетической рекомбинантной формы RS7, сочетающей хромосомы от *Ae. speltoides* и *Ae. umbellulata* (BBAASU). Транслокации от *Ae. speltoides* выявлены на хромосомах 1D, 2D, 3D, 5D, 6D, 7D, 1B, 4B, 5B. Впервые отобраны линии, у которых обнаружен генетический материал одновременно от двух разных дикорастущих видов. В линии SU9 идентифицировано несколько, не известных ранее, межхромосомных перестроек: замещение хромосомы 4D на хромосому 4S *Ae. speltoides*; транслокация в коротком плече хромосомы 7D от *Ae. umbellulata*; транслокация от *Ae. speltoides* в длинном плече хромосомы 1D и транслокация или делеция в длинном плече хромосомы 6D. Линия SU14, предположительно, имеет транслокацию 2DS.2DL-2UL на длинном плече хромосомы 2D от *Ae. umbellulata* и транслокацию T7SS.7SL-7DL в хромосоме 7D от *Ae. speltoides*. Транслокации 2DS.2DL-2UL и T.7DL.7DS-7US от *Ae. umbellulata* получены впервые. Идентифицированы ранее неизвестные транслокации T3DS.3DL-3SL в линии SU11 и T4BS в линии SU19.

Впервые дана оценка генетического разнообразия отобранных интрогрессивных линий по наличию молекулярных маркеров, сцепленных с генами, определяющими устойчивость к листовой ржавчине (*Lr*), редукции высоты (*Rht)*, определяющими время колошения (*Vrn*) и потребность в яровизации (*Ppd*), характеризующими аллельное состояние генов (*Wx*) и определяющих состав крахмала.

Выявлено различие линий по генам, обуславливающим устойчивость к листовой ржавчине. Установлено, что устойчивость у линий контролируется за счёт присутствия как единичных, так и комплексов генов, при этом некоторые из них могут нести новые эффективные гены.

Разработана схема маркер-контролируемого беккроссного отбора, с применением которой получены линии-доноры, содержащие единичные и пирамиды двух, трех генов устойчивости к листовой ржавчине. Получены линии мягкой пшеницы с модифицированным соотношением амилозы и амилопектина, несущие нуль-аллели *Wx*-генов. Отобраны растения F_2, несущие маркеры *Xgwm533* и *Xgwm493*, сцепленные с локусом устойчивости к фузариозу колоса QFhs.ndsu-3BS, имеющие хорошую оценку по степени поражения зерна. В линиях мягкой пшеницы альтернативного образа жизни выявлено высокое генетическое разнообразие гаплотипов согласно идентифицированным аллелям генов *Vrn-1* и *Ppd-1*.

С применением методов экологической селекции и ДНК-маркирования созданы новые сорта мягкой пшеницы: сорт двуручка Вызов, яровые сорта Кулич и Данко.

Теоретическая и практическая значимость работы. Результаты, полученные в настоящей диссертационной работе, показывают высокую эффективность создания и использования синтетических геномно-замещенных, геномно-добавленных и рекомбинантных форм для решения фундаментальной задачи - расширения генетического разнообразия мягкой пшеницы за счет генофонда ее дикорастущих сородичей.

С помощью использования комплекса цитологических, цитогенетических и молекулярных методов отобраны интрогрессивные линии с новыми транслокациями и замещенными хромосомами от различных видов диких сородичей, выявлены линии, у которых идентифицированы гены ряда важных для селекции пшеницы признаков. Получены линии-доноры генов устойчивости к листовой ржавчине, отобраны линии мягкой пшеницы с измененным составом крахмала. Созданы высокоадаптивные сорта мягкой пшеницы, несущие комплекс ценных хозяйственно-биологические признаков и свойств.

Отобранные в ходе исследования интрогрессивные линии представляют собой ценный для селекции мягкой пшеницы исходный материал. Линии могут служить в качестве новых доноров устойчивости к комплексу грибных болезней, повышенного

содержания белка и клейковины, улучшенных технологических свойств зерна. Линии, сочетающие хорошие хлебопекарные качества с групповой устойчивостью к болезням, рекомендованы для оценки на урожайность в конкурсном сортоиспытании. Линии с идентифицированными генами устойчивости к листовой ржавчине могут быть включены в селекционные программы, направленные на улучшение мягкой пшеницы по этому признаку. Отобранные линии с идентифицированными новыми интрогрессиями (транслокации, замещения хромосом) могут послужить основой для дальнейшей селекционной работы по передаче генетического материала от дикорастущих видов, а также стать модельными объектами в фундаментальных исследованиях, направленных на понимание механизмов передачи чужеродного генетического материала в геном мягкой пшеницы.

Полученные с применением схемы маркер-контролируемого беккроссного отбора линии-доноры генов устойчивости к листовой ржавчине *Lr9*, *Lr19*, *Lr24*, *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. 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 сорт альтернативного образа жизни Вызов, сорта яровой мягкой пшеницы Кулич и Данко, позволят расширить возможности производства в условиях, неблагоприятных для возделывания озимой мягкой пшеницы.

<u>Основные положения диссертации, выносимые на защиту:</u>

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 геномно-замещенные, геномно-добавленные и рекомбинантные формы позволяют существенно реконструировать геном мягкой пшеницы. Интрогрессия генетического материала дикорастущих видов (*T. militinae*, *Ae. tauschii*, *Ae. speltoides*, *Ae. umbellulata*) от синтетических форм происходит в основном посредством транслокаций и замещения 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 для ФГБНУ «НЦЗ им. П.П. Лукьяненко» 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 Российским фондом фундаментальных исследований (РФФИ): 06-04-96732-р_юг_а «Создание новых синтетических форм пшеницы на основе генофонда дикорастущих сородичей для

решения теоретических и практических задач селекции мягкой пшеницы» 2006-2008гг; 06-04-96671-р_юг_а «Изучение новых линий мягкой пшеницы с генетическим материалом диких видов для решения актуальных проблем селекции» 2006-2008г.г.; 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.

Основные результаты исследований были представлены на международных и всероссийских съездах, симпозиумах, конгрессах, конференциях, в том числе:

Научно-практической конференции «Зеленая революция П.П. Лукьяненко», Краснодар, 2001;

На Международной научно-практической конференции «Генетические ресурсы культурных растений», Санкт-Петербург, 2001;

Международной научно-практической конференции «Пути повышения и стабилизация производства высококачественного зерна», Краснодар, 2002;

На третьем Съезде Вавиловского общества генетиков и селекционеров «Генетика в XXI веке: современное состояние и перспективы развития», Москва, 2004;

Международной научно-практической конференции «Безостая1 – 50 лет триумфа», Краснодар, 2005;

Международной конференцию по биоинформатике регуляции и структуры геномов и системной биологии (Bioinformatics of Genome Regulation and Structure\Systems Biology — BGRS\SB-2010);

Международной конференции «Генетические ресурсы пшеницы и геномика», Новосибирск, 2011;

III и VI Съездах ВОГИС, Москва, 2004; Ростов-на-Дону, 2014;

VIII Московском международном конгрессе «Биотехнология: состояние и перспективы развития» и XIII международная специализированная выставка «Мир биотехнологии - 2015», г. Москва;

Международном научном симпозиуме «Генетика и геномика растений для продовольственной безопасности», Новосибирск, Россия 2016;

«VII Съезде Вавиловского общества генетиков и селекционеров, посвященном 100-летию кафедры генетики СПбГУ, и ассоциированных симпозиумах», Санкт-Петербург, 2019;

V Международной конференции «Генетика, геномика, биоинформатика и биотехнология растений» PlantGen2019, 24-29 июня 2019, г. Новосибирск, Россия;

IV и V Международных научных конференциях "Современное состояние, проблемы и перспективы развития аграрной науки", ФГБУН "НИИСХ Крыма". 2019, 2020;

II-ой Международной научной конференции «Растения и микроорганизмы: биотехнология будущего» PLAMIC2020, 5-9 октября 2020, г. Саратов;

6-ой Международной конференции «Генетика, геномика, биоинформатика и биотехнология растений» PlantGen 2021, 14-18 июня 2021 г Новосибирск, Россия;

Публикации. Материалы исследования представлены в 82 публикациях, из которых 22 входят в рецензируемые издания ВАК, 12 – в базы данных SCOPUS.

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

Личный вклад автора. Диссертационная работа является результатом исследований, проведенных в НЦЗ им. П.П. Лукьяненко 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 им. П.П. Лукьяненко, 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.

Благодарности. Автор искренне благодарит научного консультанта - Академика РАН, д.б.н., профессора, заведующую отделом селекции и семеноводства пшеницы и тритикале НЦЗ им П.П. Лукьяненко Беспалову Л.А., сотрудников отдела селекции и семеноводства пшеницы и тритикале в.н.с. Филобок В.А., с.н.с. Агаеву Е.В., за участие в экспериментальных работах и обсуждении результатов. Выражает глубокую признательность заведующей лабораторией молекулярной генетики и цитогенетики растений, д.б.н., профессору Салиной Е.А., и д.б.н. Адониной И.Г. за проведение генотипирования гибридного материала мягкой пшеницы методом FISH, в.н.с. лаборатории функциональной морфологии хромосом Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта, д.б.н. Бадаевой Е.Д. за проведение анализа дифференциального окрашивания хромосом, директору ФГБНУ ВНИИСБ, академику РАН Карлову Г.И. и заведующему лабораторией частной и прикладной геномики сельскохозяйственных растений, руководителю Курчатовского геномного центра – ВНИИСБ к.б.н. Дивашуку М.Г. за помощь в проведении молекулярных исследований.

Особую благодарность автор выражает своим коллегам-сотрудникам отдела биотехнологии НЦЗ им П.П. Лукьяненко, а также заведующему отделом, д.б.н. Давояну Румику Оганесовичу за всестороннюю поддержку, наставничество, жизненный опыт и пример, позволивший автору приступить к данному исследованию.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Происхождение мягкой пшеницы

Мягкая пшеница (*T. aestivum* L.) – одна из важнейших хлебных культур имеющая широкое распространение по всему земному шару. Пшеница как вид сформировалась в Передней Азии, в области, известной как Плодородный полумесяц. Генетические сравнения культурной и дикой пшеницы выявили, что наиболее вероятным местом её одомашнивания является местность близ города Диярбакыр (современная Турция) (Dubcovsky, 2007). Н. И. Вавилов считал основной родиной пшеницы Армению (Вавилов, 1968). В сравнении с рисом и кукурузой, двумя другими основными зерновыми культурами, пшеница менее требовательна к теплу, что позволяет ей занимать более широкий ареал. Наличие у нее генов реакции на яровизацию (*Vrn*-гены) и фотопериод (*Ppd*-гены) дает возможность создавать сорта как ярового, так и озимого типа. Причем некоторые сорта озимой пшеницы способны выдерживать снижение температуры в узле кущения до -18-20°C.

Филогенетика мягкой пшеницы *T. aestivum* (2n =6x=42, BBAADD) была предметом многих исследований и интенсивных дискуссий на протяжении нескольких десятилетий. Несмотря на достижения в области популяционной генетики и секвенирования большого генома, размером около 16000 Mbp (IWGS, 2018) у исследователей нет единого мнения относительно точной схемы происхождения мягкой пшеницы. Это связано с эволюционными процессами, которые включают естественную гибридизацию, полиплоидизацию, одомашнивание и различные мутации.

В настоящее время, общепринятым считается, что гексаплоидная пшеница образовалась в результате гибридизации между тетраплоидным видом *T. turgidum* (2n=4x=28, BBAA) и диплоидным видом *Ae. tauschii* var. *strangulata* (2n=2x=14, DD) (Riley et al., 1958; Dvorak et al., 1998) (рис. 1).

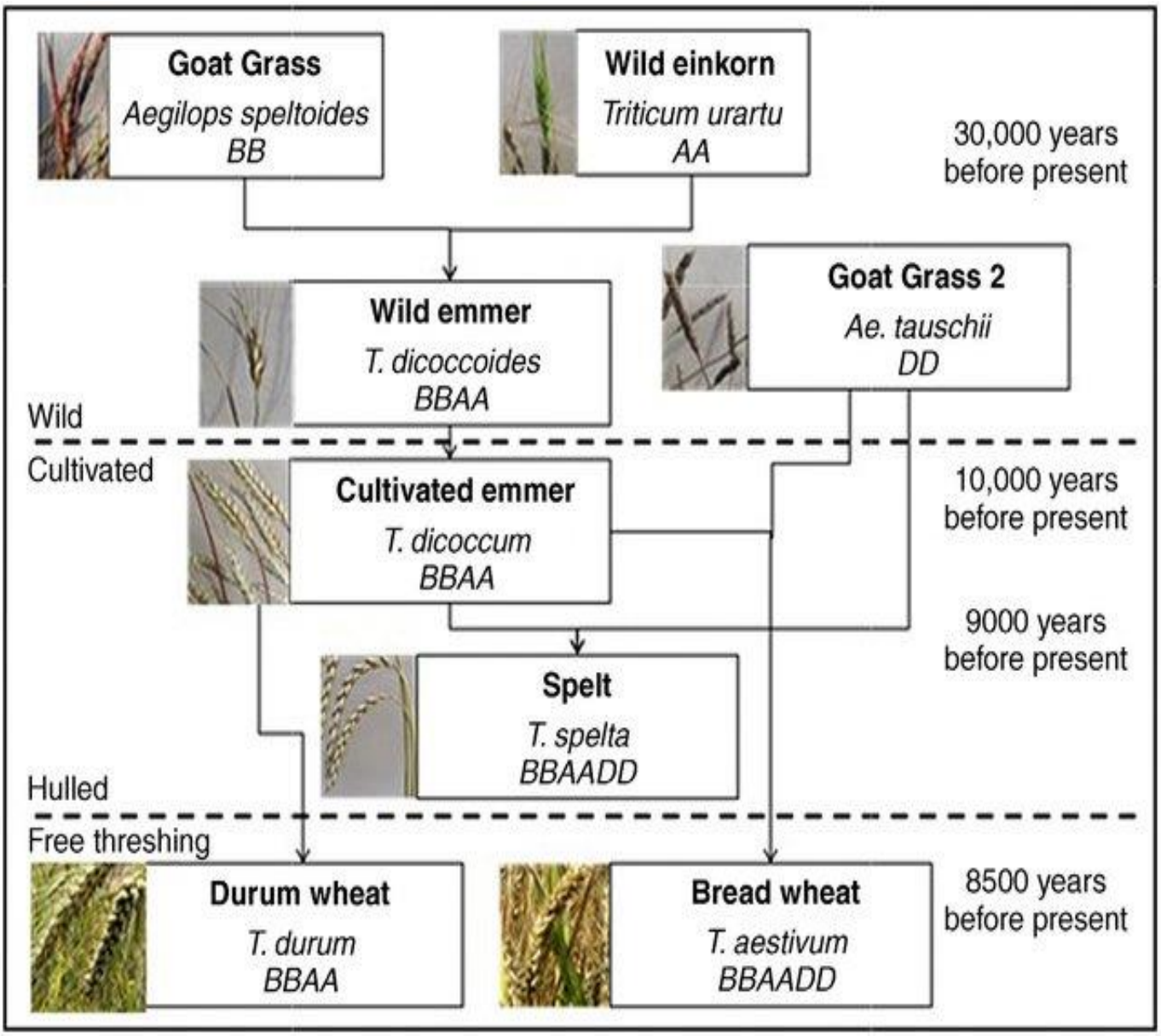


Рисунок 1. Эволюция происхождения пшеницы и её предшественников Адаптировано Wuletaw Tadesse (ICARDA) из New Hall Mill: The Evolution of Wheat

Kihara (1919) показал, что *T. turgidum* имет один общий геном *с T. monococcum* (2n=2x=14, A^mA^m) и два общих генома с *T. aestivum*. Однако цитологический анализ не позволял различить *T. monococcum от T. urartu* (2n=2x=14, AA). Уже, гораздо позже с помощью молекулярных методов было показано, что *T. urartu* действительно является донором генома A для тетроплоидной и гексаплоидной пшеницы (Dvorak et al., 1993).

Гексаплоидная пшеница *T. zhukovsky* (2n=6x=42, $A^tBA^mA^mGG$) возникла в результате гибридизации *T. monococcum* с *T. timopheevii* (2n=4x=28, A^tBGG) (Upadhya, & Swaminathan, 1963). Полученные результаты стали основанием для прений относительно происхождения геномов B и G. Райли и др. (1958), предполагал, что донором генома B *T. turgidum* является *Ae. speltoides*. Современные данные убедительно свидетельствуют о том, что донорами геномов B и G для полиплоидных пшениц был *Ae. speltoides* (Petersen et al., 2006).

1.2. Биологические и генетические особенности мягкой пшеницы

По образу жизни мягкая пшеница разделяется на озимые и яровые формы, а также двуручки - биологическая группа сортов, альтернативного образа жизни, развивающихся при осеннем посеве как озимые, а при весеннем как яровые. Озимая пшеница отличается от яровой лучшей продуктивностью основных признаков, влияющих на формирование высокого урожая. В тоже время у последней как правило выше показатели качества белка и клейковины.

Мягкая пшеница представляет собой аллогексаплоид (6x), который образует 21 пару хромосом (2n=42) во время мейоза. Хромосомы подразделяются на 3 близкородственные (гомеологичные группы) в составе геномов A, B и D, полученных от разных видов (Kihara, 1957; Riley & Chapman, 1960). Сирсом (1966), было установлено, что каждая хромосома имеет гомолога в двух других геномах.

Все виды, принадлежащие к роду *Triticum*, можно разделить на три основные группы, каждая из которых имеет различия по количеству хромосом в генеративных и вегетативных клетках. Так, неоплодотворенные яйцеклетки у них содержат 7, 14 или 21 хромосому, а вегетативных клетках это число удваивается. Таким образом, диплоидные, тетраплоидные и гексаплоидные виды пшеницы несут 14, 28 и 42 хромосом соответственно. Гибридизация мягкой пшеницы с гексаплоидными видами с геномами (BBAADD) проходит легко, так как они генетически совместимы. Скрещиваемость с тетраплоидными видами, несущими геномы A и B, указывает на

их частичную генетическую совместимость. При этом, она отсутствует в случае скрещивания с диплоидными видами и с тетраплоидными видами, имеющими геном (G).

Как и все аллополиплоидные виды трибы *Triticeae* мягкая пшеница сама является отдалённым гибридом. Таким образом, знания о геномном строение мягкой пшеницы, позволяют подбирать для передачи чужеродного материала виды, имеющие гомологичные или близкородственные гомеологичные геномы. Это позволяет вводить в геном мягкой пшеницы новые гены хозяйственно-ценные признаков, используя обычную рекомбинацию хромосом во время мейоза.

1.3. Использование генофонда диких сородичей для улучшения мягкой пшеницы

Дикорастущие виды родов *Triticum*, *Aegilops*, *Agropiron*, *Secale*, *Haynaldia*, *Villosa* и другие имеют широкий спектр агрономических фенотипических особенностей, содержат богатый пул аллельных вариаций, который можно исследовать, поддерживать и использовать для улучшения мягкой пшеницы. Дикие сородичи хорошо адаптированы к условиям среды своего произрастания, вследствие чего обладают полезными свойствами устойчивости к абиотическим стрессам. В тоже время их потенциал активно использовался для передачи устойчивости к вредителям и болезням пшеницы.

Большинство работ по передаче ценных признаков от диких видов связано с резистентностью к болезням, так-как с одной стороны запас эффективных генов устойчивости самой мягкой пшеницы практически исчерпан, с другой - по мере расширения ареала сортов с одними и теми же генами, эффективность последних преодолевается патогеном. Таким образом, отсутствие разнообразия генов устойчивости способствует развитию эпифитотий и является актуальной проблемой селекции. Успешные результаты данной работы могут быть достигнуты только при сохранении и всестороннем изучении природных сородичей по устойчивости к

основным возбудителям болезней мягкой пшеницы, и другим ценным для селекции признакам. В таблице 1 приведены наиболее широко используемые виды и гены устойчивости к основным грибным болезням, переданные от них мягкой пшенице.

Таблица 1. Виды диких сородичй и гены устойчивости к основным грибным болезням, переданне от них пшенице мягкой

Вид	Листовая ржавчина *(Puccinia triticina)*	Жёлтая ржавчина (*Puccinia striiformis)*	Стеблевая ржавчина (*Puccinia graminis)*	Септориоз (*Zymosept-oria tritici)*	Мучнистая росса (*Blumeria graminis)*
T. timopheevii	*Lr18, Lr50, LrTt1, LrTt2*		*SrTt1, Sr36, Sr37, Sr40*	*SnbTM*	*Pm6, Pm27, Pm37, MIAG12*
Ae. umbellulata	*Lr9*				*PmY39*
Ae. tauschii	*Lr21* (=*Lr40*), *Lr22a, Lr32, Lr39* (=*Lr41*), *Lr42,*	*Yr24, Yr28 Yr48*	*Sr33, Sr45, SrTA1017, SrTA1018,*		*Pm2, Pm34, Pm35,*
Ae. speltoides	*Lr28, Lr35, Lr36, Lr47, Lr51, LrAsp.5 Lr66* (=*LrS13*)		*Sr32, Sr39, Sr47*		*Pm12*
Ae. ventricosa	*Lr37*	*Yr17*	*Sr38*		
A. elongatum (=tinopirum)	*Lr19, Lr24, Lr29*		*Sr24, Sr25, Sr26, Sr43*		
A. intermedium	*Lr38*		*Sr44*		*Pm40, Pm43*
S. cereale	*Lr26, Lr25, Lr45*	*Yr9*	*Sr31, Sr27*		*Pm7, Pm8, Pm17, Pm20*

Наряду с устойчивостью к болезням и насекомым-вредителям дикорастущие виды обладают засухоустойчивостью, зимостойкостью, солевыносливостью, повышенным количеством и качеством белка (Dvorak et *al*., 1985).

Генофонд диких сородичей пшеницы структурирован на основе геномной конституции и скрещиваемости с мягкой пшеницей. Он включает три основные группы: первичный, вторичный и третичный (Jiang et al, 1994; Friebe et al., 1996) (рис. 2)

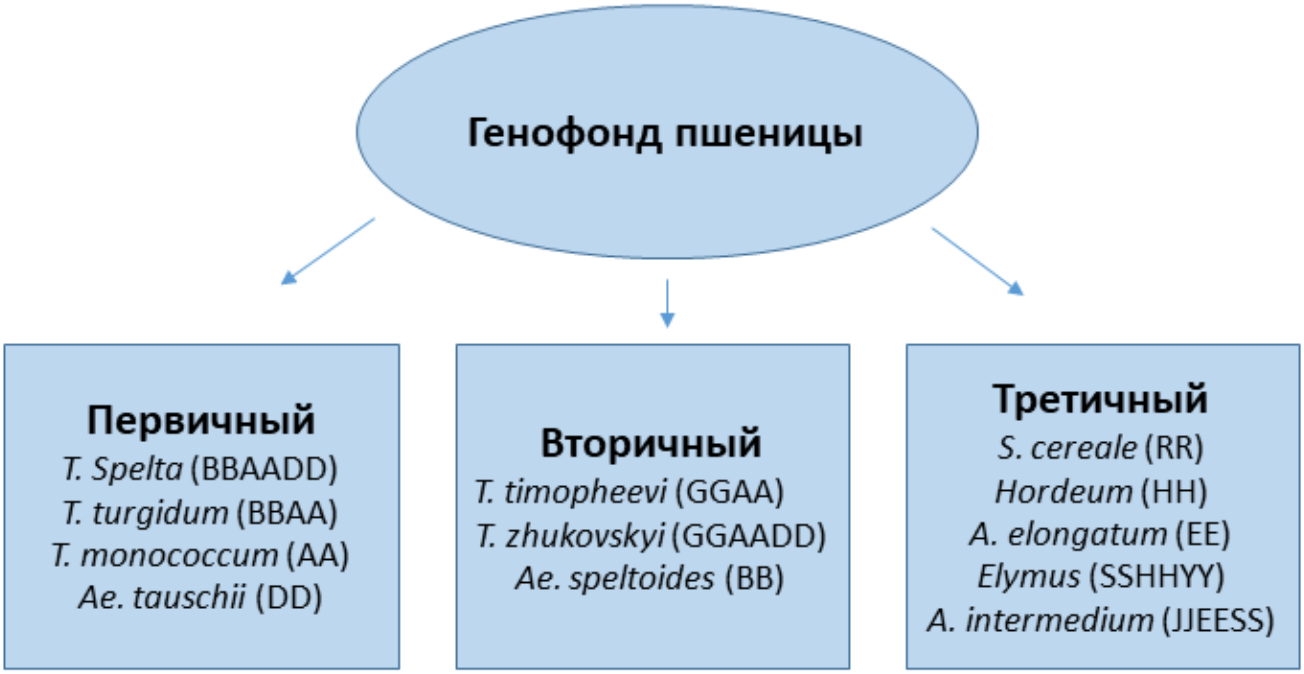


Рисунок 2. Генофонд пшеницы, представленный различными видами

Первичный ген пул включает гексаплоидные местные сорта, культивируемые тетраплоиды, дикую форму тетроплоида *T. dicoccoides*, донор генома – (A) *T. monococcum* и его разновидности *T. boeoticum* и *T. urartu*, диплоидные доноры геномов A и D гексаплоидной пшеницы. Перенос генов из первичного генофонда возможен с помощью прямой гибридизации путём гомологичной рекомбинации хромосом (Gill & Raupp, 1987; Kimber, 1993). Для этого применяются стандартные методы селекции, такие как возвратные скрещивания и отбор. С их помощью было передано много генов устойчивости к болезням и вредителям и некоторые из них до сих пор используются в программах по улучшению пшеницы (McIntosh, 1993).

Вторичный генофонд состоит из полиплоидных видов *Triticum* и диплоидных видов *Aegilops*, которые имеют один гомологичный с мягкой пшеницей геном. Перенос генетического материала из вторичного генофонда требует специальных цитогенетических приёмов для увеличения степени рекомбинации между чужеродными и гомеологичными хромосомами пшеницы. Однако он возможен и посредством прямого скрещивания, при условии, что он локализован в гомологичных геномах.

Виды, филогенетически наиболее отдалённые от мягкой пшеницы несущие геномы, не гомологичными пшенице, составляют третичный генофонд. Это роды трибы *Triticeae*: рожь – *Secale* L., ячмень – *Hordeum* L., пырей – *Elytrigia* Desv. (= *Agropyron* Gaertn.; = *Thinopyrum*) и др. Для передачи от них генетического материала требуется применение специальных методов хромосомной инженерии.

1.3.1. Передача ценных признаков от видов рода *Triticum*

Генофонд *Triticum* объединяет всё разнообразие видов пшеницы и имеет огромный потенциал для её улучшения.

В качестве источников устойчивости к болезням большой интерес представляют пленчатые виды *T. monococcum* L. (A^B) и *T. timopheevii* Zhuk. (GGA^tA^t). Культурная однозернянка *T. monococcum* L. subsp. monococcum, и ее дикий родственник *T. monococcum* subsp. aegilopoides являются важными источниками экономически полезных генов, которые можно использовать для селекции пшеницы. *T. monococcum* принадлежит к первичному генофонду пшеницы и обладает высокой устойчивостью к таким заболеваниям, как листовая ржавчина, стеблевая ржавчина, желтая ржавчина и мучнистая роса. Гены устойчивости к стеблевой ржавчине *Sr35*, листовой ржавчине *Lr63* и устойчивости к мучнистой росе *Pm25* были картированы и перенесены в мягкую пшеницу (Zaharieva, 2014).

Вавилов называл *T. monococcum* «аккумулятором комплексного иммунитета», однако отмечал, что некоторые его формы могут поражаться грибными болезнями

(Вавилов, 1964). Ещё ранее, в 1907 году об устойчивости *T. monococcum* к желтой ржавчине сообщалось Биффеном (Biffen, 1907). Рядом авторов сообщалось об устойчивости этого вида к таким болезням как стеблевая и листовая ржавчины, мучнистая роса (Zitelli, 1980); септориоз (Tomerlin et al., 1984); пыльная головня (Кривченко и др., 1976), индийская головня (Dilbag, 1988); твердая головня (Чмут и др., 1988). Следует отметить, что перенос генов от этого вида относительно прост и основан на стандартных методах селекции, таких как гомологичная рекомбинация, гибридизация и обратное скрещивание.

Для улучшения питательных свойств пшеницы Н. И. Вавилов (1935) предлагал использовать в скрещиваниях спельту *T. spelta* L. (BBAADD) и обыкновенную полбу. О перспективности скрещивания мягкой пшеницы с шарозерной *T. sphaerococcum* (BBAADD) сообщал Якубцинер (1968), так как это позволяет получить скороспелые гибриды с высоким содержанием белка.

Перспективным для улучшения признаков пшеницы является использование в качестве донора *T. dicoccum* (BBAA). Будашкиной (1975) было отмечено, что при скрещивании этого вида с мягкой пшеницей возникают формы устойчивые к болезням, которые, к тому же, имели высокий процент белка и хорошие хлебопекарные качества.

1.3.1.1. Передача ценных признаков от *Triticum timopheevii*

Пшеницы группы *Timopheevii* включают следующие тетраплоидные виды: культурную форму *T. timopheevii*, её дикорастущую разновидность *Triticum araraticum* Jakubz, которая имеет схожий фенотип и цитоплазму и произрастает на территории Армении, Грузии, Ирана, Турции, а также гексаплоидный вид *Triticum zhukovskyi* Menabde et Erizjan. ($GGA^tA^tA^mA^m$) (Гончаров, 2012), обозначения геномов согласно Бадаевой с соавторами (2010). *T. timopheevii* характеризуется сильной опушённостью узлов и листьев, а также повышенным иммунитетом к болезням.

Высокую устойчивость этого вида к грибным болезням отмечал Н.И. Вавилов (Вавилов 1986). В дальнейшем исследования ученых подтвердили устойчивость *T. timopheevii* ко многим грибным заболеваниям (Tomerlin et al., 1984; Чмут и др., 1988).

От этого вида в мягкую пшеницу были перенесены гены устойчивости к листовой ржавчине *Lr18, Lr50*, гены устойчивости к стеблевой ржавчине *Sr36, Sr37, Sr40* и гены устойчивости к мучнистой росе *Pm6, Pm27, Pm37,* (McIntosh et al., 2013).

Групповой устойчивостью к грибным болезням обладает и естественный мутант этого злака - голозёрная пшеница *T. militinae* геном (GGA^tA^t), (Tomar, 1988). Существует гипотеза о появлении этой пшеницы в следствии спонтанной гибридизации *T. timopheevii* и *T. carthlicum* (*Triticum carthlicum* Nevski. = *Triticum persicum* Vav. ex Zhuk.) с геномом A^uB (Гончаров, 2012).

Скрещиваемость *T. timopheevii* с мягкой пшеницей зависит от применяемых образцов, так как это влияет на коэффициент фертильности (Bhagyalakshmi et al., 2008). Так как *T. timopheevii* несет гены цитоплазматической мужской стерильности (ЦМС), фертильность лучше всего достигается, когда в качестве материнской формы используются виды с самым высоким уровнем плоидности. Гомология генома (A) *T. timopheevii,* геному (A) мягкой пшеницы, позволяет относительно легко передавать от него необходимые признаки. Тогда как геном (G) *T. timopheevii* лишь частично родственен геному (B), мягкой пшеницы. Довольно часто, гибриды, полученные при скрещивании этих видов, оказываются стерильными и цитологически нестабильны. Одним из способов преодоления генетического барьера скрещиваемости *T. timopheevii* с мягкой пшеницей является создание амфиплоидов (Таврин, Прилюк, 1983). При этом, как отмечали эти авторы, у полученных амфиплоидов наблюдалось снижение устойчивости к грибным болезням, к тому же они расщеплялись по устойчивости к листовой ржавчине.

Скурыгина и др. (1970) сообщала, что устойчивость к болезням содержат только гибриды с фенотипом *T. timopheevii*. У гибридных растений промежуточного типа и типа мягкой пшеницы, спельты, пшеницы Вавилова, отмечалась большая или

меньшая восприимчивость к болезням. В дальнейшем Н. А. Скурыгиной (1970) удалось отобрать устойчивые к грибным болезням линии, у которых отсутствовала опушённость листьев и узлов характерная для *T. timopheevii*.

В опыте Е. Ф. Мигушовой по скрещиванию с видами, имеющими геном (G), установлена тесная связь между иммунитетом растений и щетинистой опушённостью узлов и листьев, что, вероятно, выражается в характере сцепления генов (Мигушова, 1973).

Allard and Shands (1954), Nyquist (1962) характеризовали *T. timopheevii* как источник устойчивости к стеблевой ржавчине. С применением *T. timopheevii* были получены мейотически стабильные линии C112632 и C112633, устойчивые к листовой, стеблевой ржавчине, мучнистой росе и пыльной головне (Allord, Shands, 1954). Эти линии несли ген устойчивости *SrTt1* и послужили донорами устойчивости к стеблевой ржавчине при создании сортов Maris Huntsman и Marsam в Великобритании (Sharma, Gill, 1983).

От *T. timopheevii* в европейские сорта Walter, Sappo, Arkas, Famos, Taifun, Turbo передана устойчивости к мучнистой росе. В нашей стране с применением *T. timopheevii* получены линии, устойчивые к листовой ржавчине и мучнистой росе (Леонтьева, Будашкина, 1981; Скурыгина, 1984).

Ген *Sr36*, сцепленый с геном устойчивости к мучнистой росе *Pm6* был передан в хромосому 2B мягкой пшеницы (Mcintosh and Gyarfas, 1971; Mcintosh and Luig, 1973; Mcintosh, 1991). Известно о передаче гена *Sr36* сортам Arthur, Hand, Kenosha, Roughrider, Vernumm, Wisconsin, Supremo в Северной Америке, Timvera, Mendos, Timgalen, Cooc, Songlen – в Австралии, Dipca, Flamink, Gouritz – в Южной Африке, Кении и Эфиопии (Mcintosh it al., 1995).

От *T. timopheevii* мягкой пшенице передан ген устойчивости к стеблевой ржавчине *Sr37* (McIntosh, 1973, 1991). Примечательно, что этот ген был обнаружен у линии *SrTt-2,* с замещение хромосомы 4G(4B), однако анализ мейоза указывал на то, что хромосома 4G была включена в транслокацию с хромосомой 4B (Dvorak, 1983).

По данным Макинтоша ген *Sr37* не способствовал улучшению сортов пшеницы (Mcintosh et al. 1995).

Ген *Sr40,* сцепленный с устойчивостью к стеблевой ржавчине, был передан из *T. timopheevii* ssp. araraticum в мягкую пшеницу в составе транслокации T2BL.2G-2S (Dyck, 1992). Ген *Sr 40* не использовался для улучшения пшеницы (Mcintosh, 1995).

От *T. timopheevii* была получена транслокация T5BS.5BL-5G#1L с геном устойчивости к листовой ржавчине *Lr18* (McIntosh, 1983; Yamamori M., 1994). Использование гена *Lr18* в селекционной практике было малоэффективным.

Ген устойчивости к листовой ржавчине *Lr50*, получен от дикого вида *T. timopheevii* ssp. armeniacum. Селекционные линии с данным геном сохраняли устойчивость к листовой ржавчине в различных регионах на протяжении нескольких лет (maswheat.ucdavis.edu/protocols/*lr50/*).

В числе первых генов, переданных от *T. timopheevii,* в мягкую пшеницу был ген устойчивых к мучнистой *Pm6* (Jorgensen, Jensen, 1973). Этот ген остается одним из наиболее эффективных во многих регионах мира и широко использовался для создания устойчивых к мучнистой росе сортов пшеницы (Alam et al., 2011).

От дикорастущего вида *T. timopheevii* var. armeniacum переданы гены *Pm37* и *MIAG12*. С помощью маркеров AFLP было установлено, что оба гена имеют локализацию на длинном плече хромосомы 7A (Perugini et al., 2008;). Однако расположение генов *Pm37* и *MIAG12* на молекулярных картах хромосомы 7AL и выявленный молекулярными маркерами полиморфизм между исходными родительскими формами свидетельствует о том, что они не идентичны.

Ген устойчивости к септориозу *SnbTM*, обнаружен на хромосоме 3A линии, полученной от скрещивания *T. durum* и *T. timopheevii* (Ma, 1995).

Srinivasachary с соавт., (2008) на хромосоме 2B линии пшеницы RL4137 был обнаружен QTLs, ассоциированный с устойчивостью к фузариозу колоса, при этом авторами было показано, что главный локус Qfhs.jic-2B унаследован от *T. timopheevii*.

Группой исследователей из Эстонии при изучении интрогрессивных линий с хроматином от *T. militinae* были обнаружены QTLs сцепленные с устойчивостью к мучнистой росе, эти локусы идентифицированы на хромосомах 4A, 2A, 1A, 5B, 7A (Jakobson et al., 2006, 2012).

1.3.2. Передача ценных признаков от видов рода *Aegilops*

Род *Aegilops* сыграл очень важную роль в эволюции пшеницы. Широкая адаптация в разных эколого-географических зонах делает этот род источником высокого генетического разнообразия, которое может быть использовано для улучшения мягкой пшеницы.

Результаты исследования коллекций видов рода *Aegilops* в разных странах, свидетельствуют об их устойчивости к различным патогенам (Bell, Lupton, 1955; Pasquni, 1980). Так, при оценке 37 образцов эгилопсов коллекции Калифорнийского университета США, принадлежащих к 16 видам, было выявлено 30 образцов устойчивых к мучнистой росе. Из 187 образцов 21 вида устойчивость к листовой ржавчине проявили 124 образца и 48 образцов из 80 были устойчивы к гессенской мухе. Из 53 образцов, принадлежащих к 17 видам, устойчивыми к злаковой тле были 10. Из 60 образцов *Ae. tauschii* 32 образца были устойчивы к листовой ржавчине, 31 - к мучнистой росе, 34 - к злаковой тле, 24 - к гессенской мухе, а 6 образцов несли устойчивостью ко всем перечисленным болезням и вредителям (Gill, 1985).

Китайскими учёными, по устойчивости к болезням изучены эгилопсы, принадлежащие к 14 различным видам (Chen Shangan et al., 1989). Ими было показано, что из 68 образцов устойчивыми к стеблевой ржавчине были - 12,3 %, к бурой - 5,9 %, к желтой - 10,8%, и к мучнистой росе - 75%. Так же выявлено, что все образцы *Ae. biuncialis, Ae. columnaris, Ae. crassa, Ae. speltoides* и *Ae. variabilis* устойчивы к индийской головне. В нашей стране устойчивость к листовой ржавчине была выявлена у образцов видов *Ae. speltoides, Ae. longissima, Ae. ventricosa* (Мигушова, Григорьева, 1973). Кривченко (1976) отмечал у образцов *Ae. speltoide* высокую

устойчивость к пыльной головне. Мигушова и др. (1982) выделяла диплоидные виды с геномом (S) такие как, *Ae. aucheri*, *Ae. speltoides* и с геномом (M) от *Ae. comosa*, *Ae. mutica* как высокоустойчивые к мучнистой росе.

Впервые с помощью метода ионизирующего излучения, Сирсу удалось передать устойчивость к листовой от *Ae. umbellulata*. Так ген *Lr9* был передан сорту мягкой пшеницы Чайниз Спринг (Sears, 1956). Это событие послужило отправной точкой для начала работ по использованию эгилопсов в качестве источников ценных признаков. Так, от *Ae. longissima*, *Ae. speltoides* пшенице была передана устойчивость к мучнистой росе (Zeller & Heun, 1985). От *Ae. ventricosa* перенесена в геном пшеницы устойчивость к глазковой пятнистости (Doussinault, 1983), шейковой гнили (Mcmilian et al., 1986), мучнистой росе (Delides et al., 1987).

Гены устойчивости к желтой ржавчине *Yr8* и стеблевой ржавчине *Sr34*, переданы от *Ae. comosa* в форме транслокации. По данным McIntosh (1995b) данные гены не применялись для улучшения сортов пшеницы.

Ceoloni с коллегами (1983) с помощью применения гомеологичной рекомбинации интрогресировал ген устойчивости к мучнистой росе *Pm13* из короткого плеча хромосомы 3S *Ae. longissima* в хромосомы мягкой пшеницы 3BS и 3DS. Это ген успешно используется в селекции пшеницы (Ceoloni et al. 1996).

1.3.2.1. Передача генов устойчивости к листовой ржавчине от *Aegilops tauschii*

Большой интерес в качестве источника ценных признаков и, в частности, устойчивости к листовой ржавчине, представляет *Ae. tauschii* (DD). Наряду с большим разнообразием образцов, этот вид является донором генома D мягкой пшеницы, что значительно облегчает передачу от него генетического материала.

Ген устойчивости к листовой ржавчине *Lr21*, переданный от *Ae. tauschii* локализован в коротком плече хромосомы 1DL. Выявлено, что ген *Lr21* и выявленный ранее у линии KS89WGRC07 ген *Lr40*, являются аллельными (Huang & Gill, 2001). Ген *Lr21* высоко устойчив к популяции листовой ржавчины в США и Канаде и

умеренно устойчив в Европе. Результаты полученные при изучении популяции *P. triticina* в различных регионах России показали высокие значения вирулентности к данному гену (Гультяева, Баранова, 2010). Несмотря на то, что ген *Lr21* достаточно изучен и известен в течение длительного времени, он не получил широкого распространения в мировой селекции. Согласно данным (https: // maswheat. ucdavis. edu/protocols /Lr21/index.htm) единственным североамериканским сортом, который несет *Lr21*, является AC Cora.

От *Ae. taushii* в короткое плечо хромосомы мягкой пшеницы 2D перенесён ген устойчивости взрослых растений к листовой ржавчине *Lr22a*. Диплоид Ae. *tauschii* var. strangulata RL5271 (2n = 14, DD), несущий ген *Lr22a*, предварительно был скрещен с тетраплоидом Canthatch (2n = 2x = 28, BBAA) для получения синтетического гексаплоида RL5404. Позже эта форма была использована в качестве донора *Lr22a* в программах возвратного скрещивания, направленных на картирование и поиск подходящих маркеров для селекции. Ген относится к группе умеренно эффективных в Европе, США и Австралии и высокоэффективным в Канаде (McIntosh et al., 1995; Mesterhazy et al., 2000; Hiebert, 2007). В полевых условиях Северо-Западного региона России поражённость линий TcLr22a за период 2002-2011 варьировала от 1 до 40% (Гультяева, Баранова, 2010). Сорта AC Minto, 5500HR и 5600HR с геном *Lr22a* выращиваются в Канаде. Однако ни в одном случае *Lr22a* не использовался в качестве единственного источника устойчивости к листовой ржавчине. Эти сорта занимали лишь небольшой процент (0,13–0,95%) производственных площадей пшеницы в Канаде с 1998 по 2006. В настоящее время ген рекомендуется для создания сортов с длительной устойчивостью в сочетании с другими генами (Hiebert, 2007).

С помощью гомеологической рекомбинации в мягкую пшеницу был передан ген устойчивости к листовой ржавчине *Lr32* (Kerber, 1987).

Один из генов устойчивости к листовой ржавчине, интрогресированных от *Ae. tauschii* в сорт мягкой пшеницы Wichita, получил обозначение *Lr39*. С применением моносомного анализа ген был локализован на 2D хромосоме мягкой пшеницы, а в

дальнейшем картирован на её коротком плече. Эти результаты подтверждают ранее сделанные выводы Raupp et al., (2001) и противоречат выводам Cox et. al., (1994), который сообщал, что *Lr39* является аллельным гену *Lr21* и локализован на хромосоме 1D. Имеющиеся противоречия были решены с помощью молекулярного картирования (Huang et al., 2003). Исследования показали, что гены устойчивости к листовой ржавчине в зародышевой плазме KS86WGRC2 (Gill et al. 1987) и KS89WGRC7 (Gill et al. 1991) переданные от *Ae. tauschii* аналогичны (TA1649) и являются аллельными *Lr21*(Huang et al., 2003). Таким образом, установлено, что при описании родословной линии KS86WGRC2 были допущены ошибки.

Гены устойчивости к листовой ржавчине *Lr2* и *Lr22a* также были локализованы на коротком плече хромосомы 2D. Однако картирование *Lr39* дистальнее маркера *Xgwm210* выявило его локализацию в районе теломеры 2DS, тогда как *Lr2* связан с центромерой (McIntosh et al. 1998). Локус *Lr22a* не зависит от центромеры (McIntosh, 1995). Данные полученные Raupp Sukhwinder-Singh указывают, что *Lr2* и *Lr22a* проксимальны к маркеру *Xgwm210* (Raupp Sukhwinder-Singh, 2001). В локусе *Lr22a* есть, по крайней мере, два аллеля (a и b), один из которых передан в мягкую пшеницу от *Ae. tauschii*. Оба гена *Lr22a* и *Lr22b* проявляют устойчивость к листовой ржавчине только на стадии взрослого растения, тогда как *Lr39* проявляет устойчивость как у проростков, так и взрослых растений. Кроме того, *Lr22a* был получен из *Ae. tauschii* var. strangulata, тогда как *Lr39* от *Ae. tauschii* var. eusquarrosa. Эти данные подтверждали вывод о том, что *Lr39* отличается от *Lr2* и *Lr22a*.

Lr21 и *Lr22a* были использованы в канадских сортах AC Cora и AC Minto соответственно, а ген *Lr39* в американском сорте Thunderbolt, который выращивался на больших площадях в Северной Америке. Вирулентные к гену *Lr39* изоляты впервые были отмечены в США в 2002 году (Brown-Guedira et al., 2003). В коллекции ВИЗР имеются образцы с геном *Lr39* KS90WGRC10 и KS86WGRC02. Результаты ежегодной оценки данных линий в полевых и лабораторных условиях выявляют различный уровень их резистентности к листовой ржавчине (Гультяева, 2012).

Ген устойчивости к листовой ржавчине *Lr42* был идентифицирован в *Ae. tauschii* и передан в твердую озимую пшеницу. Ген *Lr42* обеспечивает устойчивость к листовой ржавчине на всех стадиях онтогенеза растения и остается эффективным против большинства рас листовой ржавчины, о которых сообщалось до настоящего времени (Sun et al., 2010). Линии, содержащие *Lr42*, были успешно использованы в некоторых селекционных программах (Bacon et al., 2006). Мартин с соавторами отмечает, что ген *Lr42* положительно влияет на увеличение урожайности пшеницы (Martin et al., 2003).

1.3.2.2. Передача ценных признаков от *Aegilops speltoides*

Одним из ценных источников устойчивости к болезням культурной пшеницы является *Ae. speltoides* (2n = 14) с геномом (SS).

Многочисленные скрещивания между *Ae. speltoides* и гексаплоидной пшеницей (*T. aestivum*) с последующим отбором устойчивого потомства часто приводили к появлению транслокаций между хромосомами двух видов, поскольку при гибридизации с мягкой пшеницей *Ae. speltoides* способствует гомеологичному конъюгированию хромосом (Dvorak, 1977).

Ген устойчивости к листовой ржавчине *Lr28*, локализованный на длинном плече хромосомы 4A, был в числе первых генов переданных мягкой пшенице от *Ae. speltoides* (Riley et al., 1968). Ген является эффективным в странах Европы, Китае, Индии, Пакистане, Австралии и России, и описан как неэффективный в США и Канаде (McCallum, 2008; Zhemchuzina, Kurkova, 2010; Гультяева, Баранова, 2010). Ген *Lr28* не ассоциируется с нежелательными признаками и в отличие от многих генов переданных от диких сородичей, характеризуется повышение урожайности (Kumar, Raghavaiah, 2004). Ген активно используется в селекционных программах по созданию устойчивых к листовой ржавчине сортов в Индии. В Австралии создан сорт пшеницы Sunland, несущий *Lr28* (Prabhu et al., 2007; Cakir et al., 2008).

Возрастной ген устойчивости к листовой ржавчине *Lr35* путем гомеологичной рекомбинации были переданы из хромосомы 2S *Ae. speltoides* в хромосому 2B мягкой пшеницы (Kerber, Duek, 1990). Ген *Lr35* описан как высокоэффективный в США, Канаде и странах Европы (Mesterhazy et al., 2000). Поражаемость почти изогенных линии сорта Tetcher с геном *Lr35* в условиях Пушкинских лабораторий в период с 2002-2010 гг. колебалась от 0-50% (Гультяева, Баранова, 2010). В одной транслокации с геном *Lr35* на растоянии 3 сМ находятся ген *Sr39*, который обеспечивает устойчивость ко всем известным в настоящее время патотипам *Puccinia graminis* f. sp. tritici (Pgt), включая Ug99 (TTKSK) и его варианты TTKST и TTTSK, которые вирулентны по отношению к часто используемым в селекции генам *Sr24* и *Sr36*, соответственно. *Sr39* был перенесен в гексаплоидный сорт пшеницы Маркиз из *Ae. speltoides* (Kerber, 1990). Ген *Lr35* еще не использовался в селекции пшеницы, вероятно это связанно с негативным агрономическим эффектом, вызванным вследствие большого размера транслокации. В то же время сообщалось, что южноафриканский генотип пшеницы (Karee * 6 / RL6082) с *Lr35* (*Sr39*) показал значительное увеличение водопоглощения муки по сравнению с родительским сортом Karee (Labuschagne, 2002). Созданы линии с уменьшенными транслокационными сегментами *Ae. speltoides*, которые также несут гены *Sr39* и *Lr35* и могут стать ценным материалом для селекции мягкой пшеницы (Labuschagne, 2002).

От *Ae. speltoides* в хромосому 6BS мягкой пшеницы передан ген ответственный за устойчивость к листовой ржавчине, который был определен как *Lr36* (McIntosh et al., 1991).

В составе транслокации от *Ae. speltoides*, мягкой пшенице передан ген устойчивости к листовой ржавчине *Lr51* (Dvorak, 1977), локализованный в длинном плече хромосомы 1B мягкой пшеницы (Helguera, 2005). Dvorak, (1977) обнаружил, что растения гомозиготные по гену *Lr51* проявляют высокую устойчивость в сравнении гетерозиготными растениями у которых отмечены более низкие уровни устойчивости с пустулами, окруженными некрозом и хлорозом, что указывает на неполное

доминирование. Ген *Lr51* резистентен к большинству рас листовой ржавчины в США (Helguera, 2005). *Lr51* редко использовался в селекции мягкой пшеницы, это связано с возможным негативным эффектом, так как транслокация, несущая этот ген имеет большой размер.

Ген устойчивости к листовой ржавчине *Lr47* придает устойчивость к широкому спектру штаммов листовой ржавчины. Этот ген был интрогрессирован из хромосомы 7S *Ae. speltoides* в хромосому 7A гексаплоидной пшеницы *T. aestivum*. Чтобы облегчить перенос *Lr47* в коммерческие сорта, тесно сцепленный с ним локус Xabc465 полиморфизма длины рестрикционных фрагментов (RFLP) был преобразован в маркер на основе ПЦР (Helguera et al., 2000).

Marais et al., (2003) была получена интрогрессивная линия S13 с генами устойчивости ко всем трём возбудителям ржавчины. Интрогрессия от *Ae. speltoides* затрагивала короткое плечо хромосомы 3A пшеницы и проксимальную область хромосомы 3AL и включала ген устойчивости к листовой ржавчине *Lr66*. Однако его нельзя было использовать в комерческих целях из-за связанного с ним гаметоцидного гена *Gc*, оказывающего сильное влияние на развитие, урожайность и качество семян. В дальнейшем авторами были выделены рекомбинантные линии, в которых ген устойчивости *Lr66* был отделён от гена *Gc* с помощью гомеологической рекомбинации, однако при этом была потеряна устойчивость к жёлтой и стеблевой видам ржавчины (Marais et al., 2010c).

Адониной и др., (2012) идентифицирована новая транслокация T5BS.5BL-5SL от *Ae. speltoides*, которая несёт эффективный ген устойчивости к листовой ржавчине, обозначенный как *LrASP5*.

Miller, Reader (1988) используя индуцированную гомеологическую рекомбинацию, перенесли ген *Pm12*, детерминирующий устойчивость к мучнистой росе от *Ae. speltoides* в пшеничную хромосому 6B. Рекомбинантная хромосома была описана как T6BS-6S#1S 6S#1L. Переданный ген не способствовал улучшению сортов пшеницы (McIntosh et al., 1991).

1.3.3. Передача ценных признаков от видов рода *Agropyron*

Виды рода *Agropyron* обладают множеством желаемых генов для улучшения характеристик пшеницы, включая устойчивость к определенным заболеваниям и абиотическому стрессу.

Впервые о получении пшенично-пырейных гибридов сообщал Персиваль (Percival, 1921). Согласно исследованиям Вакара (1935), геном B *Agropyron glaucum* (= *A. intermedium*) гомологичен геному B пшеницы, геном D частично гомологичен геному D пшеницы, в то время как геном X не имеет гомологов среди хромосом пшеницы. Эти данные не согласуются с результатами, полученными Хижняк (1936), который считал, что ни один из геномов пшеницы не имеет полную гомологию с таковыми у *A. glaucum*. Рето (1930), предполагал наличие у этого вида только одного генома гомологичного геному пшеницы.

Кнотт с соавторами, посредством ионизирующего излучения, передал от *A. elongatum* в длинное плечо 7D хромосомы мягкой пшеницы гены *Lr19* и *Sr25* устойчивости к листовой и стеблевой ржавчинам соответственно (Knott, 1968; Dvorak and Knott, 1977). Полученная транслокация была описана как T7DS.7DL-7Ae#1L и перенесена в сорт пшеницы Агата, однако чужеродный фрагмент, несет нежелательный ген(ы), который придает желтый цвет зерну и муке. В дальнейшем автором, методом стимуляции гомеологичной конъюгации хромосом были получены линии Агата-28 и Агата-235 у которых отрицательный признак отсутствовал (Knott, 1980; 1984). Методом C-banding было показано, что линии Агата и Агата-28 имеют схожие транслокации, а отсутствие негативного признака, обуславливающего желтый цвет муки вероятно связано с мутацией гена, ответственного за пигментацию. Новая транслокация T7DS.7DL-7Ae#1L-7DL, идентифицированная у линии Агата-235 отличалась меньшим размером и несла устойчивость только к листовой ржавчине. Дальнейшие исследования показали, что у неё отсутствовал ген *Sr25*, который, вероятно был сцеплен с нежелательной окраской муки (Friebe et. al., 1994b).

Сцепленные гены *Lr19* и *Sr25* от *A. distichum* (Thun.) Love (syn. *Thinopyrum distichum* (Thun.)) были переданы в сорт мягкой пшеницы Индиас (Maris et al., 1988; Maris et al., 1992). На хромосоме 7DL этого сорта обнаружено замещение на участок из *A. distichum*, при этом чужеродный сегмент имеет ген(ы), сцепленный с окраской эндосперма. Методами GISH и C-banding было показано, что транслоцированная хромосома у сорта Индиас схожа с таковой у линии Агата (Zhang and Dvorak, 1990; Maris et al., 1990). Вероятно, что обе транслокации, получены из одного источника *Agropiron/Thinopyrum.* Путем гомеологической рекомбинации, методом беккроссирования линии Агата несколькими австралийскими сортами, Сирсом также были переданы гены *Lr19/Sr25* мягкой пшенице (Sears, 1973; 1977). Известны сорта пшеницы в Швеции - Sunnan и в Мексике - Oasis 86 (McIntosh et al., 1995) в России – Паллада, Яра (Давоян и др., 2014) которые несут ген *Lr19*. Однако связь этого гена с нежелательной пигментацией ограничивает его широкое применение в селекции мягкой пшеницы. В этой связи, генотипы у которых отсутствует этот эффект, выделенные из линии Агата (Knott, 1980, 1984, 1989) и сорта Индиас (Maris et al., 1990) могут иметь огромный потенциал в селекции.

Ген *Lr19,* долгое время относился к группе высокоэффективных во всём мире, однако на данный момент, во многих регионах возделывания сортов, несущих *Lr19*, отмечается вирулентность к этому гену (Гультяева, Баранова, 2010; Zhemchuzina, Kurkova, 2010).

От *A. elongatum* Host (=*Th. Ponticum* Liu & Wang; *L. elongatum*) в геном мягкой пшеницы, дважды передана транслокация, несущая гены *Lr24* и *Sr24*. В первом случае передача произошла за счёт спонтанной транслокации 3D/Ag#3 в сорте Agent (Smith et al., 1968), а во втором путём индукции гомологичной рекомбинации (Sears, 1973). Обе транслокации локализованы на длинном плече хромосомы 3D, однако в первом случае был передан более длинный фрагмент (Smith et al., 1968). Ген *Lr24* широко распространён в сортах США, Канады, Мексики, в странах Южной Америки, Австралии и Южной Африки, что привело к потере его эффективности в ряде

регионов (McIntosh, 1995). В настоящее время эффективность гена сохраняется в Западной Европе и России (Mesterhazy, 2000; Гультяева, Баранова, 2010; Gultyaeva et al., 2014; Гультяева, 2020). По данным молекулярного анализа, присутствие гена *Lr24* в сортах пшеницы российской селекции не выявлено (Гультяева, Алпатьева, 2011, Gultyaeva et al., 2014 Aktar-Uz-Zaman et al., 2017).

От *A. elongatum* в короткое плечо 7D хромосомы мягкой пшеницы передан ген *Lr29* (Mcintosh et al., 1995). Впоследствии *Lr29* был интрогрессирован в сорт Тэтчер (Tc) путем возвратного скрещивания (Tc * 6 / *Lr29*), в этой работе была использована почти изогенная линия RL6080. Только два изолята из Турции и один из Пакистана были вирулентными на стадии проростков (McIntosh et al., 1995). Ген относится к группе частично эффективных в России и других странах мира (Mcintosh, 1995; Mesterhazy, 2000; Zhemchuzina, 2010; Гультяева, 2010). В отличии от генов *Lr19* и *Lr24*, переданных от пырея, *Lr29* не сцеплен с генами, обуславливающими негативные агрономические признаки. Кроме того, при оценке возможных негативных эффектов на хлебопекарные качества, линий коллекции BC6 с генами *Lr29*, *Lr34*, *Lr35* и *Lr37* было обнаружено, что наличие этих генов способствовало значительному увеличению белка и водопоглотительной способности (Labuschagne, 2002). Несмотря на это, коммерческие сорта, несущие данный ген, в мировой селекции не встречаются (McIntosh et al., 1995).

Из хромосомы 7 группы *A. elongatum* в пшеничную хромосому 7D, с помощью гомеологичной рекомбинации передан ген устойчивости к стеблевой ржавчине *Sr43* (Knott et al., 1977; Kibirige-Sebunya, Knott, 1983). Однако этот ген сцеплен с нежелательной окраской муки и может расщепляться в потомстве, что осложняет его применение в селекции пшеницы.

Применив радиационное излучения Кнотт (1968) перенёс ген *Sr26* в длинное плечо 6A хромосомы пшеницы в составе транслокации T6AS.6AL-6Ae#1L (Friebe et al.,1994a). Интрогрессия этого гена оказывала влияние на улучшение качества зерна

пшеницы и использовалась в австралийских сортах, однако, при этом, отмечалось некоторое снижение урожайности (McIntosh et al., 1995).

Ген устойчивости к вирусу полосатой мозаики (*WSMR*) передан мягкой пшенице посредством применения ионизирующей радиации (Sebesta, Belingham, 1963; Sebesta et al.,1972). Сегмент *1Ae#1* из *A. elongatum* был транслоцирован в пшеничную хромосому 4D линии C115322. Помимо этого, линия C115322 имела еще одну хромосому от *A. elongatum* 1Ae#2, замещенную на пшеничную хромосому 1D. Несмотря на устойчивость к инфекции линия широко не применялась в селекции пшеницы.

Ларсон и Аткинсон (1970, 1972) передали ген устойчивости к пшеничному клещу *Cmc2*. Данный ген был доступен в составе транслокаций T5BL.6Ae#2S, T6AS.6Ae#2S и T6DL.6Ae#2S (Whelan and Lukow, 1990), однако практически не использовался для улучшения пшеницы.

Венхус (Wienhues 1966, 1973) получил линии с транслокациями от *A. intermedium* ($EEE^{st}E^{st}S^{t}S^{t}$). Хромосомный сегмент *7Ai#2L*, присутствовал в пяти транслокациях, и все они содержали ген *Lr38*. Локус *7Ai#2L* у 5 транслоцированных линий T4, T7, T24, T25 и T33 был передан, соответственно, в хромосомы 3DS, 6DL, 5AS, 1DL и 2AL. У всех пяти линий сообщалось о снижении урожайности (Dyck and Friebe 1993). Из линии T7 ген *Lr38* был интрогрессирован в длинное плечо хромосомы 6DL сорта пшеницы Тэтчер, далее с помощью серии возратных скрещиваний была получена почти изогенная линия RL6097 (Tc.6 / T7), несущая ген *Lr38* (Dyck и Friebe 1993). Вследствие снижения урожайности из-за присутствия *7Ai#2L*, ген *Lr38* до сих пор не использовался для создания устойчивых к листовой ржавчине сортов. Линия RL6097 проявляла устойчивость ко всем протестированным изолятам *P. triticina* (Dyck and Friebe 1993). Аналогичные результаты были получены в исследованиях, проводимых Mesterházy et al. (2000). По результатам оценки в 12 Европейских странах, *Lr38* был описан как один из самых эффективных генов устойчивости к листовой ржавчине. Эти результаты также были подтверждены исследованиями

учёных Италии, Германии и России, в которых отмечался огромный потенциал гена для селекции на устойчивость к листовой ржавчине пшеницы (Pasquini et al. 1998; Lind, Gultyaeva, 2007).

От *A. intermedium* в мягкую пшеницу передан ген устойчивости к вирусу полосатой мозаики *Wsm1* (Lay et al., 1971; Wells et al., 1982). Для этого семена F_1, полученных от скрещивания линии C115092 (4Ai#2(4A) с замещенной линией *Ae. speltoides*//Fletcher x Centurk подвергали радиационному облучению. Ген был перенесён в зародышевой плазме линии C117883 с транслоцированными хромосомами T6AS.4Ai#2L и T6AL.4Ai#2S и в линию C117884 несущей компенсированную транслокацию T4DL.4Ai#2S (Friebe et al., 1991). У линии C117884 также была идентифицирована транслокация T7AS-7SS.7SL от *Ae. speltoides*, которая несет ген устойчивости к гессенской мухе *Gb5*. По данным Гилла (Gill et al., 1995), транслокация T4DL.4Ai#2S оказывает положительное влияние на агрономические показатели.

1.3.4. Передача ценных признаков от видов рода *Secale*

Виды рода *Secale* обладают потенциально полезными свойствами, такими как устойчивость к болезням, адаптивность к биотическим и абиотическим стрессам. Рожь посевная или культурная (Secale *cereale* L.) — одна из важнейших зерновых культур, возделываемых в Восточной и Северной Европе. Она характеризуется способностью давать высокие урожаи даже при выращивании в стрессовых условиях окружающей среды, таких как низкие температуры, засуха и др., отличается устойчивостью к болезням. Кроме того, рожь имеет высокое содержание многих полезных для питания соединений, таких как набор минералов (Zn, Fe, P), бета-глюканы, резистентный крахмал и биологически активные соединения (Andersson et al. 2009). Ржаные продукты характеризуются высоким содержанием пищевых волокон, что может способствовать положительному влиянию на здоровье (Rosen et al. 2011).

Одно из первых исследований скрещиваемости между пшеницей и дикими сородичами было опубликовано около века назад (Backhouse, 1916) и показало, что скрещиваемость между пшеницей и рожью является рецессивным признаком. Эти результаты получили дальнейшее подтверждение (Riley & Chapman, 1967). Возможность получения гибридов между гексаплоидной пшеницей и диплоидной рожью была показана еще в конце XIX в. (Салима, 1976). Впоследствии было установлено, что большинство сортов мягкой пшеницы, как правило, плохо скрещиваются с рожью (Ригин, Орлова, 1977; Гордей, 1983а;). Исключение составляли таксоны экологических групп Восточной Сибири и Китая (Ригин, Орлова, 1977; Гордей, 1983а).

Впервые, Lein (1943) показал эффекты аллелей *Kr1* и *Kr2* как ингибиторов скрещиваемости гексаплоидной пшеницы с рожью. Скрещиваемость контролируется двумя генами где доминантные аллели локусов, *Kr1* и *Kr2* снижают скрещиваемость (Riley, 1966), причем *Kr1* более эффективен, а *Kr2* менее эффективен в этом отношении. Sitch et al (1985) установил, что ген *Kr1* находится на расстоянии 44,8±3,3 сантиморгана от центромеры хромосомы 5B, тогда как *Kr2* находится в аналогичном положении на хромосоме 5A. Эти результаты подтверждают, что они расположены в гомеологических локусах. Некоторые авторы сообщают, что хромосома 5D также несет ген *Kr3*, влияющий на скрещиваемость с рожью (Krolow, 1970). Рецессивные аллели генов *kr1, kr2* присутствуют у некоторых генотипов пшеницы, происходящих из Китая, Японии, Восточной Сибири, и Ирана (Zeven, 1987), тогда как европейские сорта мягкой пшеницы имеют доминантные аллели этих генов. Эффективность отдаленной гибридизации пшеницы с различными видами злаков удалось значительно повысить, благодоря передаче генов *kr1* и *kr2* от китайских пшениц в сорта пшениц других эколого-географических групп (Гордей, 1983а).

Катерман (1937) отобрал пшенично-ржаную линию, с замещением хромосомы 1B пшеницы на 1R от ржи. Тем самым, была обнаружена спонтанная транслокация T1BL.1R#1S (Mettin et al., 1973; Zeller, 1983). Полученная транслокация несла группу

сцепленных генов *Lr26/Sr31/Yr9/Pm8* устойчивости к трём видам ржавчины и устойчивости к мучнистой росе (Bartos and Bares, 1971; Bartos et al., 1973). К тому же, при передачи её в сорта мягкой пшеницы наблюдался гетерозисный эффект, связанный с увеличением урожайности (Rajaram et al., 1983). Однако было выявлено, что транслокация T1BL.1R#1S может оказывать негативный эффект на качество зерна. В дальнейшем, были идентифицированы 1RS-сегменты этой транслокации различного размера (Rogowski et al., 1991; 1993). Причём некоторые линии, несущие их, имели улучшенную структуру белка. Транслокация в этих линиях была определена, как T1AL.1R#1S. Обе ржаные транслокации широко использовались для улучшения гексаплоидной пшеницы (Lukaszewski, 1990; Villareal et al., 1991). В настоящее время в мире известно более 1050 сортов пшеницы, содержащих транслокацию T1BL.1RS, а также около 100 сортов с транслокацией T1AL.1RS (Rabinovich, 1998; Pershina, 2014; Schlegel, 2019). Следует отметить, что большинство сортов с транслокацией T1BL.1RS несет чужеродный хроматин от сорта ржи Petkus, а с T1AL.1RS – от сорта Insave (Schlegel, 2019; Поротников и др., 2020).

Дрискол совместно с коллегами получил линию, названную Transec, которая экспрессировала ген устойчивости к листовой ржавчине *Lr25* и ген устойчивости к мучнистой росе *Pm7* (Driscoll and Jensen, 1964; 1965; Driscoll and Anderson, 1967). Линия Transec, к тому же имела сегмент, полученный из ржаной хромосомы 5RL с геном *Hp*, придающим опушенность узлу стебля. Эта линия являлась нуллисомиком по длинному плечу пшеничной хромосомы 2B и имела цитологические отличия от линий, полученных ранее. В дальнейшнем методом дифференциального окрашивания хромосом, было показано присутствие пшенично-ржаной транслокации T4BS.4BL-2R#1L, однако существует предположение, что ржаной участок в Transek был получен из отдаленного 5RL региона (Heun, Friebe,1990; Friebe et al., 1995). Гены *Lr25* и *Pm7* не способствовали улучшению сортов пшеницы (McIntosh et al., 1995).

Сорт ржи Петкус послужил донором для передачи в мягкую пшеницу гена устойчивости к листовой ржавчине *Lr45* (Mukade, 1970). С применением

цитологических и цитогенетических методов анализа была идентифицирована пшенично-ржаная транслоцированная хромосома T2AS-2R#3S.2R#3L. Однако большой размер ржаного сегмента в этой транслокации пока что затрудняет ее использование в селекции пшеницы.

От сорта ржи Imperial Акосте (Acosta, 1962), посредством облучения радиацией, удалось перенести ген *Sr27* устойчивости к стеблевой ржавчине в 3A хромосому сорта пшеницы Chinese Spring. Полученная транслокация была идентифицирована как T3AS.3R#1S (Marais, 1994). Ген *Sr27* присутствует в ржаных хромосомах 3R многих линий тритикале (McIntosh et al., 1995).

Фрайбом с коллегами получена пшенично-ржаная транслокация T6BS.6R#2L, которая несёт ген устойчивости к мучнистой росе *Pm20* (Friebe and larter, 1988; Friebe et al., 1994a; 1995).

Ген устойчивости к гессенской мухе *H21*был получен из сорта ржи Chaupon и впервые перенесен на мягкую пшеницу (Triticum aestivum L.) в форме робертсоновской пшенично-ржаной транслокации T2BS·2RL с использованием культуры ткани (Friebe et al., 1990). Так же этими авторами сообщалось о проводимых манипуляциях с хромосомами, направленными на получение укороченного ржаного сегмента в T2BS·2RL путем индуцированной гомеологичной рекомбинации. Следует отметить, что данная транслокация не ассоциируется с пониженным качеством и придает устойчивость ко всем известным биотипам гессенской мухи.

Ген устойчивости к гессенской мухе *H25* из хромосомы 6RL сорта ржи Balbo был передан в пшеницу с применением гамма-излучения (Sebesta & Wood, 1978). Анализ с применением GISH установил присутствие почти целого плеча 6RL в транслокации T6BS.6BL-6R#1L (6.95мm), тогда как его часть (3.88мm) присутствует в транслокации T4BS.4BL-6R#1L. Описанные транслокации использовались в селекционной практике. Marais (1994) применив метод гомеологичной коньюгации, передал ген *Gb2* устойчивости к обыкновенной злаковой тле *Schizaphis graminum* Rond. из короткого плеча ржаной хромосомы 1R в хромосому пшеницы 1B.

1.4. Методы переноса генетического материала от дикорастущих видов

Один из первых гибридов между пшеницей и рожью был получен более чем 100 лет назад (Wilson, 1876). Rimpau (1891) описал 12 растений, полученных из семян пшенично-ржаного гибрида, который представлял собой первый тритикале. Farrer (1904) сообщил об исследованиях гибридизации пшеницы и ячменя, однако Shepherd and Islam (1981) сочли маловероятным, что это были настоящие межродовые гибриды. Несколько многолетних трав были скрещены с пшеницей в начале 1930-х годов с целью переноса устойчивости к болезням. Гибридные растения с участием *Triticum* и нескольких видов *Aegilops* были получены в 1920–1930-х годах. Однако широкомасштабное практическое применение межродовых гибридов было начато с началом применения колхицина в конце 1930-х годов. Использование в отдалённой гибридизации колхицина позволило удваивать количество хромосом у полученных гибридов и имело большое практические, и теоретические значение. В целом передача ценного материала от многочисленных диких сородичей мягкой пшеницы и получение межвидовых и межродовых гибридов ограничивается с рядом трудностей, которые связаны с эволюционно обусловленной генетической репродуктивной изоляцией между видами и родами.

Наиболее существенными из них являются полная или частичная нескрещиваемость, нежизнеспособность гибридных зерновок, стерильность гибридов в F_1 и др. С развитием методов селекции (Kruse, 1973) и культивирования зародышей (Murashige, 1974), отдалённая гибридизация с участием различных видов стала более распространенной и успешной практикой. В некоторых случаях при интрогрессивной гибридизации перенос генетического материала в мягкую пшеницу, осложнён вследствии элиминации чужеродных хромосом у полученных гибридов. Достижением в решении этой проблемы стало использование метода получения гаплоидных растений пшеницы, который открыл более широкий доступ к ряду видов в третичном генофонде (Sharma and Gill, 1983, Laurie, 1986).

Для передачи чужеродного генетического материала в геном культурной пшеницы, применяются следующие методы:

1. Метод прямого скрещивания с видами которые имеют геномы гомологичные таковым у мягкой пшеницы;

2. Методы хромосомной инженерии, применяемые для видов с геномами, негомологичными геномам мягкой пшеницы.

Передача чужеродного генетического материла с помощью хромосомной инженерии включает следующие подходы:

а) объединением в одном организме неродственных геномов и получение полных и неполных амфидиплоидов;

б) получение дополненных линий, посредством добавления к генотипу пшеницы отдельных хромосом другого вида или рода;

с) замещение отдельной хромосомы или пары гомологов на хромосомы вида-донора;

д) получение транслокаций разной величины, несущих желательный признак.

Таким образом, совместимость видов для получения межвидовых гибридов и последующей интрогрессии ценных признаков, по-видимому, ограничивается только творчеством и решимостью исследователей в применении новых методов. Выбор метода, главным образом, зависит от генетической близости между пшеницей и чужеродным донором. Таким образом, для достижения успеха в этом направлении важно иметь представление о генетической конституции и родстве используемого дикорастущего вида с пшеницей.

1. 4.1. Передача чужеродного генетического материала путём создания амфидиплоидов и получения дополненных и замещенных линий

Перенос чужеродного хроматина начинается с межвидового скрещивания между пшеницей и целевым чужеродным видом, что приводит к образованию амфидиплоидов. Амфидиплоиды - это гибриды, содержащие диплоидный набор хромосом от обоих родителей, пшеницы и дикорастущего вида. Следует отметить, что

момента разработки Карпенченко (1937) метода преодоления стерильности отдаленных гибридов с использованием техники колхицинирования, получение амфидиплоидов стало традиционной практикой. Многочисленные гибриды между пшеницей и чужеродными видами были получены различными исследователями (Riley, Kimber, 1966).

Далее, применяется метод возвратного скрещивания, который необходим для получения дополненных, замещённых, транслокационных и/или рекомбинантных линий. Последние два события происходят либо спонтанно, через разрывы ДНК, либо через стимулирование регуляторов спаривания хромосом. В нормальных условиях спаривание хромосом происходит между гомологичными хромосомами и регулируется системой генов *Ph1* и *Ph2* (Riley and Chapman, 1958; Mello-Sampayo, 1971). Таким образом, на фоне дикого типа только гомологичные хромосомы рекомбинируют друг с другом. Возможность получения мутаций главным образом в *Ph1* ознаменовало новую эру интрогрессий у пшеницы, поскольку было показано, что чужеродные хромосомы могут спариваться и рекомбинировать с гомеологичными хромосомами пшеницы на этом фоне (Riley and Chapman, 1958; Sears and Okamoto, 1958). Другой подход включает использование ингибиторов *Ph1* и *Ph2*, происходящих от дикорастущих видов, например, таких как *PhI* от *Ae. speltoides* (Chen et al., 1994).

Если чужеродные виды не несут геномы, гомологичные с одним из геномов пшеницы, амфидиплоиды ведут себя как аллополиплоиды и в мейозе у них образуются, в основном, биваленты и мультиваленты. Таким образом, может происходить обмен генетическим материалом между чужеродной и пшеничной хромосомой.

Амфидиплоиды могут быть использованы для получения дополненных линий, которые наряду с полным набором хромосом культурного вида несут одну или несколько чужеродных хромосом. «Амфидиплоиды с одним или несколькими субгеномами гомологичными или гомеологичными пшеничным достаточно легко передают чужеродный генетический материал, способствуют получению

транслокаций и замещения хромосом за счёт гомо - и гомеологичной коньюгации, в особенности, если в используемом амфидиплоиде присутствуют гены-индукторы таковой» (Жиров, 1980; Давоян, 2012).

Особый интерес для селекции представляют синтетические геномно-замещенные гексаплоидные формы, для получения которых необходимо проведение работ по выделению тетракомпанента мягкой пшеницы (BBAA, 2n=28). Впервые возможность удаления одного из субгеномов генома D мягкой пшеницы была продемонстрирована Кербером (Kerber, 1964). Для выделения тетракомпонентов сортов Canthach и Selkirk он скрещивал их с твердой пшеницей, отбирал пентаплоиды (BBAAD, 2n=35), затем шестикратно беккроссировал мягкой пшеницей и в последующем самоопылял. Согласной этой методики были выделены тетраплоидные компоненты сортов Prelude, Thatcher и Resque (Kaltsikes, Evans, Bushuk, 1968). При этом было обнаружено, что в отсутствии генома D, тетракомпоненты теряли свои хлебопекарные качества. Однако, при получении амфидиплоида от скрещивания теракомпонентов с образцами *Ae. tauschii* вместе с восстановлением гексаплоидного уровня пшеницы были восстановлены и ее хлебопекарные качества. Таким образом, было обнаружено значение генома D для хлебопекарных качеств мягкой пшеницы, и установлена возможность его замещения геномами других видов.

Это открытие стало основанием для начала работ по модификации генома мягкой пшеницы, проводимых Е.Г. Жировым и сотрудниками лаборатории хромосомной инженерии в Краснодарском НИИСХ (НЦЗ им П.П. Лукьяненко). В результате проведенной работы были получены синтетические гексаплоидные формы, у которых геном D мягкой пшеницы сорта Аврора был замещен геномами четырех диплоидных видов эгилопса – *Ae. speltoides, Ae. umbellulata, Ae. uniaristata* и *Ae. sharonensis*, геномами трех диплоидных видов пшеницы – *T. boeoticum, T. monococcum* и *T. sinskajae* и геномами трех сортов ржи. Также были получены 76 и 78 хромосомные амфидиплоиды от скрещивания пентаплоидов сорта Авроры с гесаплоидным видом *A. glaucum* (Жиров, Терновская, 1984).

Преимущество этих форм заключается в том, что генетический материал диких видов представлен в них в более доступной форме. Все они легко скрещиваются с мягкой пшеницей и потомство имеет хорошую жизнеспособность. Отсутствует необходимость получения и использования моносомных серий и дополненных линий. Кроме того, использование таких форм предполагает получение множественных межхромосомных перестроек в форме транслокаций и замещения хромосом. Приведенные преимущества подтверждаются результатами, приведенными в данной работе.

1.5. Практическое применение чужеродных интрогрессий и их влияние на морфологические признаки и биологические свойства мягкой пшеницы

Передача чужеродного генетического материала в геном мягкой пшеницы, как правило, сопровождается изменением её признаков. Наряду с морфологическими признаками (цвет и высота растения, форма и ломкость колоса, легкость обмолота и др.) они могут оказывать влияние на тип развития, продолжительность вегетационного периода, время начала колошения, устойчивость к биотическим и абиотическим стрессам (Knott, 1987; Nevo, 1993). Поэтому при переносе генов от дикорастущих сородичей в мягкую пшеницу важно знать, в какой форме (транслокации, замещения хромосом) передаётся чужеродный материал, а также какое влияние он оказывает на проявление важных агрономических признаков.

Как правило, ограниченный набор интрогрессий, которые применяются в сельскохозяйственной практике, обусловлен негативными эффектами после переноса чужеродного хроматина. Так как, в большинстве случаев он передается достаточно большими сегментами, которые кроме локусов с желаемым признаком, могут содержать дополнительный генетический материал, оказывающий как положительное, так и негативное влияние. Например, ген *Lr19*, перенесенный с хромосомы 7E *A. glaucum*, высоко эффективен против широкого спектра изолятов возбудителей листовой ржавчины в различных регионах мира. При этом, этот ген не

нашел широкого применения в селекции пшеницы, так как чужеродный фрагмент также содержит ген Y, определяющий нежелательную желтую окраску муки (Knott, 1980). Однако ученым удалось разделить ген устойчивости *Lr19/Sr25* и ген *Y*, и получить ряд линий, содержащих фрагменты разной длины, и подобрать молекулярные маркеры, подходящие для обнаружения как гена *Lr19/Lr25*, так и гена *Y* (Zhang и др., 2005a).

Стоит отметить, что высокая степень устойчивости дикорастущих видов к болезням зачастую недоступна для интрогрессии вследствии наличия генов фертильности или генов локуса *Ph1* (Jiang et al., 1994). Даже при условии, что чужеродный генетический материал компенсирует пшеничный по отношению к фертильности и другим важным признакам, может иметь место потенциальный дисбаланс при замене хромосом, плеч и сегментов. Это может проявляться либо прямым воздействием на агрономический признак, либо потерей гена, необходимого для проявления признака (Jiang et al., 1994). Гены, подавляющие *Ph1* и способствующие гомеологической коньюгации хромосом, играют важную роль в индуцировании транслокаций от дикорастущих видов в сорта пшеницы. Хромосома 5U *Ae. umbellulata* Zhyk. (Riley et al., 1973), хромосомы 3E, 4E и 5E *Lophopyrum elongatum* (Host) (Dvorak, 1987) способствует стимулированию гомеологичной коньюгации хромосом при введении в пшеницу. У хромосомы 5 M^g *Ae. geniculata* возможна рекомбинация с хромосомой 5D пшеницы в присутствии *Ph1* (Koo, et al., 2017). *Su1-Ph1* и *Su2-Ph1* от *Ae. speltoides*, локализованные на хромосомах 3SL и 7SL способны подавляют активность локуса *Ph1*(Li et al., 2017; Dvorak et al., 2006).

Добавление отдельных хромосом ржи к хромосомному набору мягкой пшеницы сорта Голдфаст изучали Райли Р. и Чепмен С. (1958) при этом они обнаружили изменения некоторых признаков. Так, например, при добавлении хромосомы 4 и 5 происходили изменения высоты растений, добавление хромосом 6, 7 оказывало влияние на форму колоса, а хромосомы 2 на устойчивость к к желтой ржавчине, добавленная хромосома 1 способствовала появлению опушения шейки колоса.

Известны транслокации от ржи, которые приобрели практическую ценность по всему миру, такие как T1BL.1RS с комплексом генов устойчивости (*Lr26/Sr31/Yr9*), а также T1AL.1RS (*Gb2/Pm17*) с генами устойчивости к злаковой тле и мучнистой россе. Было показано, что при передаче транслокации T1BL.1RS в сорта пшеницы наблюдалось увеличение корневой биомассы, количества зерен в колосе и повышение урожайности, однако при снижении качества зерна (Ehdaie et al., 2003). Тогда как, транслокация T1AL.1RS способствует повышению содержания белка в зерне, улучшению хлебопекарных качеств, позволяет повысить уровень устойчивости к засухе и, при этом, не имеет отрицательного влияния на агрономические признаки (McIntosh et al., 1995b; Kim et al., 2004; Hoffmann, 2008). К другим важным транслокациям относят: передачу устойчивости *Sr36/Pm6* от *T. timopheevii* (Zhuk.) Zhuk., *Pm13* от *Ae. longissima* Schweinf. & Muschl., *Lr28* от *Ae. speltoides*, *Lr9* от *Ae. umbellulata*, *Sr38/Lr37/Yr17* из *Ae. ventricosa* Tausch, *Lr19/Sr25*, *Sr24/Lr24* и *Sr26* из *A. elongatum* (Sears, 1956; McIntosh, 1991; Delibes et al., 1993; Friebe et al., 1996). Подобно транслокации 1RS, транслокация, содержащая *Lr19/Sr25*, связана с более высокой биомассой (Sharma and Knott, 1966).

Изменения, происходящие в фенотипе мягкой пшеницы сорта Чайниз Спринг при добавлении отдельных пар хромосом от *Ae. umbellulata* описаны Kimber, (1967a). Им было обнаружено, что добавление хромосомы 1U от *Ae. umbellulata* оказывало влияние на признак «высота растений». При добавлении хромосом 2U, 4U, 5U наблюдалось изменение длины и формы колоса, проявлялась остистость, а хромосомы 5U - количества колосков в колосе и продолжительности вегетационного периода. Добавление хромосомы 6U приводило к увеличению уровня устойчивости к листовой ржавчине. Однако добавление чужеродных хромосом, а также замещение ими пшеничных хромосом может иметь и негативные эффекты. Так, например, Riley, Law, (1971) сообщали о появлении черной окраски колоса, связанной с замещением хромосомы 1B пшеницы на 1U от *Ae. umbellulata*. Miller (1984) показал, что замещение 5B хромосомы пшеницы на 5U от *Ae. umbellulata* приводит к увеличению

продолжительности вегетационного периода. При тестировании изогенных линий озимой пшеницы был установлен негативный эффект хромосомы *Ae. umbellulata* 6BL, содержащей ген *Lr9*, приводящий к снижению урожайности, уменьшению колличества и массы зерна в колосе (Ortelli et al., 1996). Изучение коллекции интрогрессивных линий с генами *Lr29* от *T. ponticum*, *Lr35* - от *Ae. speltoides* и *Lr37* - от *Ae. ventricosa* выявило, что транслокации, которые несут эти гены, влияют на повышение хлебопекарных качеств (Labuschagne et al., 2002). Замещение 6A и 6D хромосомы пшеницы на соответствующие от *A. elongatum* приводило к появлению у нее устойчивости к стеблевой и листовой ржавчинам (Knott, 1987), а при замещении 4D хромосомы наблюдалось появление голубой окраски зерновки (Li et al., 1993). Добавление и замещение пшеничных хромосом на хромосомы от *Ae. speltoides* приводило к появлению растений с крупным зерном и красным колосом, не имеющим воскового налета. При этом, полученные линии пшеницы с генетическим материалом от *Ae. speltoides* отличались устойчивостью к мучнистой росе и листовой ржавчине, а также способностью эффективно подавлять *Ph*-систему мягкой пшеницы (Лапочкина и др., 2000). Замещение хромосомы третьей гомеологичной группы у сорта Чайниз Спринг на 3N хромосому от *Ae. uniaristata* способствовало проявлению у линий пшеницы резистентности к высокой концентрации алюминия в почве (Miller T.E. et. al., 1993). Таким образом, приведённые выше примеры показывают, что изменение морфо-биологических признаков, может служить индикатором передачи чужеродных хромосом (Riley, Law, 1984). Однако, в ряде случаев передача чужеродного хроматина не оказывает влияния на фенотип пшеницы.

1.6. Цитологические и цитогенетические методы изучения хромосомных перестроек в геноме пшеницы

Способность различать чужеродные хромосомы, которые были введены в генетический фон реципиентного растения, является начальным этапом характеристики интрогрессивных линий.

Первые исследования по идентификации хромосом на пшенице были проведены Sears (1948), который определил локусы для нескольких агрономических и морфологических признаков, локализованных на определённых хромосомах и плечах хромосом. Им был открыт процесс поперечного деления унивалентной хромосомы у моносомиков (mis-division), способствующий созданию серий телоцентрических линий, которые с успехом использовались для идентификации плеч хромосом пшеницы (Sears, 1956). В дальнейшем были получены линии с телоцентрическими хромосомами *Ae. caudata*, *Ae. umbellulata*, *Ae. searsii* применяемые для идентификации чужеродных хромосом и их перестроек в геноме мягкой пшеницы. (Friebe et. al., 1992; Friebe et. al., 1995a; Friebe et. al., 1995b). Известно, что некоторые хромосомы дикорастущих видов отличаются от таковых у пшеницы по относительной длине плеч, а также по величине спутника. Однако из-за явления амфипластии (подавление активности спутничных хромосом одного вида другим) их не всегда можно различить от обычных хромосом визуально. Например, было обнаружено, что хромосома 1U *Ae. umbellul*ata может подавлять активность спутничных хромосом пшеницы 1B и 6B (Martini et. al., 1982), а добавление хромосомы 1R от ржи приводит к снижению активности спутничных хромосом мягкой пшеницы (Miller, 1984).

Позже, в 1970-х годах хромосомы пшеницы можно было различить, используя методы дифференциальной окраски (бэндинг хромосом) (Gill, 1974; Endo, Gill 1984; Lukaszewski, 1995). В настоящее время существуют различные методы дифференциального окрашивания, однако наибольшее распространение при анализе геномов растений, включая злаковые получил метод С-окраски (C-banding), впервые продемонстрированный учёными Pardue, M. & Gall, J.G. (1970). Этот метод позволяет выявлять различия участков структурного гетерохроматина после денатурации хромосом и последующей обработки реактивом Гимзы (Gill, 1974). Впервые о результатах использования С-бэндинга для изучения хромосом *T. aestivum* сообщалось Gill & Kimber, (1974). Endo, (1986), используя усовершенствованную

технику С-бэндинга, смог точно идентифицировать все хромосомы в геноме сортов. Чайниз спринг и Норин 61. С его помощью были охарактеризованы кариотипы многих злаковых культур, мягкой и твердой пшеницы (Gill, 1974; Dvorak, 1984; Gill et. al., 1991), ржи (Большева и др., 1984), диких сородичей пшеницы (Badaeva et. al., 1994, 2002, 2004, 2015; Friebe. et.al., 1992; 1995a) и др. Этот метод широко использовался для идентификации интрогрессивных линий с добавленными, замещёнными и транслоцированными хромосоммами *Aegilops-Triticum* (Friebe et al., 1991; 1992 1995; 1996). С-бэндинг использовался для изучения эволюции, происхождения и генетического разнообразия многих видов эгилопсов. Результаты, полученные с помощью этого метода анализа, были представлены в серии статей, (Бадаева и др., 1996а; 2002; 2004). Анализ С-бэндинга позволил авторам обнаружить, что S-геном *Ae. speltoides* был наиболее близок по отношению к B- и G-геномам *Triticum*, но отличался от других видов секции Sitopsis (Бадаева и др., 1996а). Более того, эти авторы наблюдали незначительные полиморфизмы в паттернах С-бэндинга хромосом D-генома (Бадаева и др., 2002) и U-генома (Бадаева и др., 2004), принадлежащих разным видам эгилопсов. Все эти результаты были позже сопоставлены и подтверждены с помощью FISH.

Эффективность методики С-бэндинга напрямую зависит от насыщенности дифференциального паттерна окрашивания хромосом, в пределах которых анализируются структурные преобразования. Если эти реорганизации происходят в участках хромосом, не содержащих диагностических полос гетерохроматина, идентифицировать перестройки с помощью С-бэндинга затруднительно.

В 1990-х годах протоколы молекулярной биологии были объединены с классическими цитогенетическими методами для разработки метода флуоресцентной гибридизации *in-situ* (FISH). FISH позволяет идентифицировать последовательности ДНК непосредственно на хромосомах.

Первые молекулярные зонды, использованные для целей FISH на хромосомах *Aegilops-Triticum*, содержали высоко-копийные консервативные последовательности,

такие как последовательности теломер или гены рибосомной РНК 5S и 45S (Gerlach, 1979; Gerlach, 1980). Повторяющиеся последовательности можно разделить на два типа в зависимости от их организации и характера распределения. Один тип представляет собой тандемные массивы, локализованные в виде кластеров вдоль хромосом, а другой тип состоит из дисперсных повторов, перемежающихся с неродственными повторами и распределенных по всему геному. В трибе *Triticeae* повторяющиеся последовательности, такие как pSc119.2, pSc74, pAs1, pHvG38 и pHvA14, могут использоваться в качестве хромосомных маркеров/цитологических ориентиров, имеющих значение для идентификации хромосом (Tsujimoto et al., 1997). Количество и распределение локусов рДНК, картированных на хромосомах видов, входящих в комплекс *Aegilops-Triticum*, оказалось инвариантным. Следовательно, эти зонды часто использовались в качестве маркеров в исследованиях эволюции и видообразования, а также в оценке межвидовой дивергенции (Badaeva, 1996a; 1996b; 2002; 2004; 2015). Mukai et al. (1993) использовали последовательности pSc119.2 и pAs1 для идентификации всех 21 хромосомных пар в пшенице. Со временем был разработан ряд цитомолекулярных маркеров для идентификации хромосомных плеч или сегментов. Например, Cuadrado et al. (2000; 2008) использовали синтетические олигонуклеотиды для обнаружения сигналов FISH на хромосомах пшеницы. Геномные библиотеки BAC также подвергали скринингу для разработки хромосомных маркеров FISH (Zhang et al., 2004). Комуро и соавт. (Komuro et al., 2013) провели скрининг 2000 плазмидных клонов пшеницы с целью выявления множественных тандемных повторных последовательностей, используя гибридизацию *in situ*, и отобрали 47 из них, которые дали четкие сигналы на хромосомах пшеницы.

Помимо физического картирования последовательностей ДНК на хромосомах, главным прорывом в идентификации хромосом стала разработка метода гибридизации *in situ*, использующего тотальную геномную ДНК в качестве зонда (GISH). Этот вариант гибридизации *in situ* оказался мощным инструментом для

характеристики чужеродных интрогрессий в злаках. Первый GISH был проведен на хромосомах синтетических гибридов *Hordeum chilense* Roemer & Schultes, 1817 × *Secale* africanum Stapf, 1901 (Schwarzacher et al. 1989) и *T. aestivum* × *S. cereale* Linnaeus, 1753 (Le et al. 1989). Этот метод основан на расхождении повторяющихся ДНК (Belyayev, 2001a; 2001b) и эффективно использовался для идентификации чужеродных хромосом и хромосомных сегментов в гибридах или линиях злаков (Schwarzacher et al. 1989; Leitch et al. 1990).

GISH в сочетании с FISH также использовали для изучения конституции генома природных и искусственных гибридов и идентификации интрогрессии чужеродных хромосом или сегментов хромосом (Jiang and Gill 2006).

1.7. Генетические маркеры в изучении мягкой пшеницы

Генетический маркер представляет собой фенотипически узнаваемый генетический признак, который можно использовать для идентификации генетических локусов, сцепленных групп или состоявшихся рекомбинаций. Генетические маркеры можно разделить на две основные категории: классические маркеры и ДНК/молекулярные маркеры.

«ДНК является носителем генетической информации, а изменения, происходящие в её макромолекулах, играют основную роль в проявлении наследственной изменчивости. Поэтому выявление изменений, происходящих в геноме на молекулярном уровне, является фундаментальной задачей не только для генетики и селекции, но практически для любой из биологических дисциплин» (Чесноков, 2016).

К классическому типу генетических маркеров относятся морфологические, цитологические и биохимические маркеры.

Морфологические маркеры позволяют визуально различать такие признаки как форму и размер, окраску и опушение различных органов, высоту растений и другие агрономически важные признаки. К достоинствам морфологических маркеров

относятся простота в использовании и отсутствие необходимости применения специальных инструментов. Данный тип маркеров успешно использовали в селекционных программах для различных культур. Основными недостатками морфологических маркеров являются их ограниченное количество, сложный характер наследования, а также чувствительность к условиям внешней среды (Сулимова, 2004).

Цитологические маркеры позволяют определять морфологию и структуру хромосом. В данном случае, в качестве маркеров рассматриваются характеристики распределения её сегментов. Они используются для физического картирования, кариотипирования и определения числа хромосом, для локализации чужеродного хроматина и выявления хромосомных перестроек. (Friebe et al., 1996; Бадаева и др., 2010). Применение цитологических маркеров в сочетании с ДНК-маркерами помогает выявлять негомеологичные транслокации и другие перестройки, которые невозможно определить другими методами (Timonova et al., 2013).

Биохимические маркеры – это маркеры, созданные на основе белкового полиморфизма. Они представляют собой аллельные вариации ферментов, и, следовательно, частоты генов у генотипов можно оценить с помощью биохимических маркеров. Биохимические маркеры успешно применяются для выявления генетического разнообразия, структуры популяции. Они являются доминантными, простыми в использовании и экономически эффективными. Важно отметить, что применение биохимических маркеров позволило разработать основные принципы популяционной генетики и оценить уровень генетического полиморфизма у большого числа видов. Но в результате исследования были выявлены серьёзные ограничения в использовании данного типа маркеров. Прежде всего, это тот факт, что анализ белков позволяет исследовать полиморфизм только в белок-кодирующих последовательностях и только в экспрессируемых генах. При этом в анализ не включаются такие функционально важные участки, как области промотора, различные сайты регуляции, расположенные в нетранслируемых областях генов, а также вне генов (Сулимова, 2004).

Более широкие возможности, в данном контексте, предоставляют молекулярные маркеры (ДНК-маркеры), которые позволяют анализировать не только гены кодирующие белки, но и некодирующие последовательности, а также уникальные повторяющиеся последовательности.

1.7.1. ДНК-маркеры и значение методов молекулярного картирования

Молекулярные маркеры представляют собой нуклеотидные последовательности и могут быть исследованы по полиморфизму, присутствующему между нуклеотидными последовательностями разных индивидуумов. Вставка, делеция, точечные мутации, дублирование и транслокация являются основой этих полиморфизмов, однако они необязательно влияют на активность генов. Идеальный маркер ДНК должен быть кодоминантным, равномерно распределенным по всему геному, высоковоспроизводимым и способным обнаруживать более высокий уровень полиморфизма.

ДНК-маркеры позволили локализовать многие гены, определяющие важнейшие признаки растений, предоставили ценные данные об особенностях организации геномов растений, а также способствовали значительному ускорению генетического анализа и селекционного процесса (Meksem et. al., 1995; Meyers et. al., 1998; Гостимский и др., 1999).

Методы молекулярного маркирования могут быть использованы для изучения количественных признаков. Ещё в 20-е годы прошлого века Серебровским А.С. был предложен генетический метод изучения количественных признаков – метод сигналей (Серебровский, 1970). Суть метода заключалась в использовании гена, контролирующего количественный признак – так называемую сигналь – для изучения количественного признака. Молекулярные маркеры являются идеальными сигналями, с применением которых можно картировать полигены, локализовывать участки хромосомы и изучать закономерности обмена генетической информации при

межвидовой гибридизации и интрогрессивных скрещиваниях, что имеет огромное значение для практической селекции (Tanksley et. al., 1993).

Знание точного положения гена на молекулярно-генетической карте открывает возможности его позиционного клонирования. Следует отметить, что эффективность этого процесса значительно увеличивается с прогрессом в области создания физических карт и методов секвенирования геномов растений (Jander et. al., 2002).

1.7.2. Основные виды ДНК-маркеров

Маркеры RFLP - полиморфизм длин рестрикционных фрагментов или ПДРФ. Данный вид маркеров основан на выявлении полиморфизма в гомологичных последовательностях ДНК, которая может быть обнаружена по наличию фрагментов разной длины после расщепления рассматриваемых образцов ДНК специфическими эндонуклеазами рестрикции. Зонд RFLP представляет собой меченную последовательность ДНК, которая гибридизуется с одним или несколькими фрагментами расщепленного образца ДНК после их разделения с помощью гель-электрофореза, таким образом идентифицируется уникальный образец, характерный для определенного генотипа в определенном локусе. В качестве зондов RFLP обычно используются короткие, одиночные или малокопийные клоны геномной ДНК или кДНК

RAPD-маркеры - случайно амплифицированные полиморфные участки ДНК. В анализе RAPD - маркеров используются метод произвольной амплификации полиморфной ДНК, при котором применяются короткие праймеры для ПЦР, состоящие из случайных последовательностей, длина которых обычно составляет от 8 до 15 нуклеотидов. Сложные паттерны продуктов ПЦР генерируются по мере того, как эти праймеры со случайной последовательностью отжигаются в различных областях генома организма. Технология RAPD отличается достаточной простотой, а для её исполнения требуется небольшие количества ДНК. Однако метод имеет существенные недостатки: плохая воспроизводимость результатов между

лабораториями, зависимость от условий ПЦР и чистоты ДНК, доминантное наследование.

В связи с доминантным характером наследования и плохой воспроизводимостью результатов RAPD-маркеры редко используются для генетического картирования. В тоже время информация о последовательности нуклеотидов может использоваться для создания других типов ДНК-маркеров.

CAPS-маркеры (cleaved amplified polymorphic sequences) рестрикционный анализ амплифицированных последовательностей. Этот тип маркеров выявляет полиморфизм специфических амплифицированных последовательностей. Для создания CAPS-маркеров необходимо знание нуклеотидной последовательности достаточно протяжённых фрагментов ДНК (не менее 200 п.н.). Поэтому для создания маркеров используют информацию о последовательности нуклеотидов уже клонированных генов с известной локализацией. Праймеры подбираются так, чтобы в состав амплифицированных фрагментов входили интроны, что увеличивает вероятность выявления полиморфизма. Эффективно используется информация о последовательностях ДНК, фланкирующих картированные RFLP-маркеры, так как в этом случае уже заранее известно о существовании полиморфных сайтов рестрикции.

AFLP-маркеры - полиморфизм амплифицированных фрагментов рестрикции или ДНК-фингерпринтинг. Сущность метода заключается в использовании для амплификации ДНК праймеров, гомологичных участкам с сайтами рестрикции. Использование данного вида маркеров требует значительных финансовых затрат и дополнительного оборудования. Тем не менее этот метод имеет ряд неоспоримых достоинств. Одним из главных достоинств метода, является способность выявлять большое число полиморфных ДНК-фрагментов. В отличие от методов картирования с использованием CAPS, SSLP-маркеров, для AFLP не требуется знание нуклеотидных последовательностей, необходимых для создания праймеров. Таким образом, данный метод может с успехом использоваться для генетически малоизученных объектов, при этом он превосходит RFLP по возможности выявления

значительно большего количества полиморфных ДНК-маркеров, а RAPD – по воспроизводимости результатов. Эти особенности позволили широко использовать AFLP-маркеры для картирования геномов (Vos et. al., 1995; Saliba-Colombani et. al., 2000). Одним из недостатков данных маркеров является то, что они наследуются доминантно, это уменьшает возможности их использования в исследованиях генетического разнообразия. Тем не менее профили AFLP являются высоко информативными при оценке межсортовых и межвидовых взаимосвязей между сортами (Negrini et al., 2006; SanCristobal et al., 2006b) и близкими видами (Buntjer et al., 2002).

Микросателлиты, или SSR (Simple Sequence Repeats), представляют собой короткие мотивы тандемных повторов из 1–6 нуклеотидов, которые часто встречаются в геноме различных видов. Микросателлиты распределены по всему эукариотическому геному, однако они также присутствуют в хлоропластах и митохондриях. Исследования подтвердили наличие SSR в генах, кодирующих белки, и в экспрессируемых метках последовательностей (EST). Они имеют относительно малые размеры и могут, следовательно, легко амплифицироваться при использовании ПЦР. Высокий уровень полиморфизма позволяет использовать их для изучения генетического биоразнообразия, для анализа отцовства и картирования локусов количественных признаков (QTL),

За последнее время на основе геномных и EST (expressed sequence tags) последовательностей ДНК, учёными были разработаны наборы микросателитных маркеров, специфичных для анализа генома пшеницы (Röder, Korzun 1998; Pestsova et al., 2000; Somers et al., 2004;). На сегодняшний день разработано и используется в генетическом картировании пшеницы более 4000 маркеров SSR (Ren et al., 2013). Эти маркеры способствовали построению генетических карт и увеличению плотности маркеров в определенных регионах, а также активно используются для точного картирования генов и QTLs (Somers et al., 2004; Peng, Lapitan, 2005; Ganal, Röder, 2007).

STS маркеры (Sequence Tagged Site). Развитием концепции STS стало понятие экспрессирующегося маркерного сайта EST от (Expressed Sequence Tag), предложенное в 1991 г. M.D. Adams с соавт. (Adams et. al., 1991) и A.S. Wilkox с соавт. (Wilkox et. al., 1991). STS представляют собой короткие последовательности ДНК длиной 200-500 нуклеотидов, которые встречаются в геноме только один раз. STS-маркеры оказались чрезвычайно полезными при физическом картировании генов, так как их можно использовать для идентификации любого локуса на хромосоме. STS используются в качестве стандартных маркеров для обнаружения гена в любой области генома. Благодаря своей специфичности и кодоминантному типу наследования STS-сайты нашли широкое применение в молекулярной диагностике.

SNP-маркеры (single nucleotid polymorphism) полиморфизм единичных нуклеотдидов. SNP широко распространены внутри генома и могут быть обнаружены с различной частотой в кодирующих или некодирующих областях генов или между ними (межгенная область). Основание из одного нуклеотида является наименьшей единицей наследования, таким образом SNP-анализ может предоставить самое простое и максимальное количество полиморфных маркеров. Высокая плотность и эволюционная стабильность делают их одним из наиболее удобных генетических маркеров (Азарин, 2012).

SNP в большом количестве встречаются у растений и животных, а частота SNP у растений колеблется между 1 SNP на каждые 100–300 п.н. В геноме человека они встречаются с частотой один SNP на каждую 1000 пар оснований (Sachinandam et al., 2001). В то время как в геноме пшеницы частота встречаемости таких замен составляет 1 на 540 пар оснований (Rafalski, 2002; Somers et al., 2003).

На сегодняшний день разработано большое количество методов генотипирования SNP, основанных на различных методах аллельной дискриминации и платформ обнаружения. Среди них RLFP (SNP-RFLP), а также CAPS методы является наиболее простым и доступными. Эффективерсть их использования в селекции стало основанием для появления её нового типа – GS (Genomic Selection -

геномная селекция) (Meuwissen et al.,2001). В настоящее время выявление аллельных различий по сайтам SNP осуществляется с применением технологии ДНК-микрочипов, которые позволяют одновременно выявлять тысячи маркеров и отличаются высоким уровнем информативности. Методы, основанные на SNP-анализе, характеризуются высоким уровнем информативности, и. к примеру, технологии ДНК-микрочипов стали основой для определения генотипа ржи с использованием 5234 SNP маркеров (Haseneyer et al., 2011). Относительно недавно открытые, высокопроизводительные методы генотипирования, такие как NGS, GBS и NGS на основе чипов, аллель-специфическая ПЦР делают SNP наиболее привлекательными маркерами для генотипирования.

DArT маркеры (Diversity Arrays Technology), это высоко воспроизводимая технология разнородных массивов на основе микрочипов (Lu et al., 2013a), которая позволяет обнаруживать и типировать вариации ДНК в нескольких сотнях геномных локусов параллельно. Основное отличие этого метода от SNP состоит в том, что для него не требуется информация о последовательности (Хлесткина, 2013). Данная технология отличается высокой производительностью и экономичностью и предоставляет большие возможности для генотипирования полиморфных локусов (от нескольких сотен до нескольких тысяч), распределенных по всему геному причём не только у диплоидных растений, но и, например, у гексаплоидной пшеницы (Akbari et al., 2006).

DArT маркеры могут применяется для оценки генетического разнообразия, построения генетических карт, идентификации QTLs, анализа генома, геномной селекции и др. Их эффективное применение в геномной селекции, на примере пшеницы было показано в INRA - Национальном институте сельскохозяйственных исследований Франции (Charmet, 2012). Применение DArT-маркеров позволило идентифицировать и определить хромосомную локализацию гена устойчивости к листовой ржавчине *LrAeSh1644*, что в дальнейшем значительно облегчило его передачу мягкой пшенице (Olivera et al., 2013). Сравнение эффективности DArT-

маркеров с AFLP- и SSR-маркерами при изучении 93 линий, полученных от скрещивания сорта мягкой пшеницы 'Arina' и норвежской линии яровой пшеницы NK93604, показало, что DArT-маркеры дают гораздо меньший процент сегрегационного искажения и самую высокую частоту кластеризации и, таким образом, являются наиболее точными и эффективными.

1.7.3. Методы селекции, основанные на использовании ДНК-маркеров

Определяющей задачей селекции растений является отбор конкретных растений с желаемыми признаками. Отбор обычно включает оценку размножающейся популяции по одному или нескольким признакам, при этом главной задачей селекционеров является создание новых сортов с желательной комбинацией ценных генов. Отбор перспективных растений начинается в ранних поколениях по признакам, которые имеют более высокую наследственность. Однако для признаков с низкой наследуемостью отбор часто откладывается до последующих поколений (F_5 или F_6), до того момента, когда линии станут гомозиготными. Выбор лучших растений включает в себя визуальную оценку агрономических признаков или устойчивости к стрессам, а также лабораторные тесты на качество или другие характеристики. Когда линии становятся гомозиготными (F_5 или позже), их можно отбирать и оценивать в повторных полевых испытаниях. Этот процесс занимает значительное время (10 и более лет) и является затратным. При этом размер и состав популяции растений является важным фактором для селекционной программы. Чем больше количество генов в сегрегирующей популяции, тем больший её размер необходим для идентификации конкретных комбинаций генов. Селекционные программы размножения обычно производят сотни или даже тысячи популяций, а также тысячи или миллионы индивидуальных растений (Witcombe & Virk 2001). Учитывая степень и сложность отбора, требуемого в классических селекционных программах, а также количество и размер популяций, можно оценить полезность новых инструментов,

основанных на применении ДНК-маркеров, которые могут помочь селекционерам в отборе растений.

В настоящее время методы селекции, в которых применяются ДНК - маркеры, можно разделить на две основные группы: ОПМ и геномная селекция.

ОПМ- маркер-опосредованный отбор (Marker assisted selection – MAS) - метод, при котором фенотипический отбор проводится на основе применения методов молекулярного генотипирования (Collard, 2005). Данная технология делает возможным детектирование желаемых аллелей и гаплотипов уже на ранних стадиях развития растения, что существенно сокращает и упрощает селекционный процесс. Выявление генов или QTL, контролирующих признаки, возможно благодаря генетическому анализу сцепления, который основан на принципе генетической рекомбинации во время мейоза (Tanksley 1993). Это позволяет создавать карты сцепления, состоящие из генетических маркеров для конкретной популяции. Данный метод предполагает использование ДНК-маркеров, которые имеют тесное сцепление с целевым геном, вместо отбора по фенотипу или совместно с ним. Наибольшая точность отбора достигается за счёт применения внутригенных и маркеров, фланкирующих целевой ген. В тоже время возможно использовать и более отдалённые маркеры, однако в этом случае необходимо дополнительно проводить отбор по фенотипу. Такой подход получил название маркер-направленного фенотипирования (marker-directed phenotyping).

Метод ОПМ применяется в следующих направлениях селекции:

1) Маркер контролируемый беккросс — это процесс использования тесно сцепленных ДНК-маркеров для отбора целевых локусов, минимизации длины донорного сегмента, содержащего целевой локус, и/или ускорения восстановления генома-реципиента во время возвратного скрещивания (Hospital, 2011). Основная стратегия применения данного метода - интегрирование целевого гена из агрономически слабого источника (родитель-донор) в эксклюзивную селекционную линию размножения (реципиент). Ожидаемый продукт представляет собой

улучшенную линию, содержащую исключительно ген-мишень от родителя-донора. Одним из первых преимуществ использования молекулярных маркеров в растениях было их использование для ускорения процесса возвратного скрещивания за счет уменьшения количества таковых, необходимых для восстановления фенотипа реципиента (Tanksley, 1989). Эффективность беккроссирования с помощью молекулярных маркеров зависит от ряда факторов, включая размер популяции каждого поколения возвратного скрещивания, расстояние от маркеров до целевого локуса, а также количество используемых маркеров генетического фона-backround selection (Hospital, 2003). Эксперименты показали более эффективное восстановление генома реципиента с помощью (MAS) по сравнению с классическим возратным скрещиванием (таблица 2). Беккроссная селекция на основе ОПМ — это точный и эффективный метод переноса локуса, контролирующего интересующий признак, при сохранении основных характеристик реципиента (Collard, 2007). Известно, что MABC (маркер контролируемый беккросс) эффективен для генов и локусов количественных признаков (QTL) с большими вариациями по фенотипу.

Таблица 2. Ожидаемое восстановление рекуррентного родительского генома в сравнении с беккроссами с использованием молекулярных маркеров

Поколение бэккросса	Количество образцов	% рекуррентного родительского генома	
		Бэккросс с помощью маркеров	Обычный Беккросс
BC_1	70	79,0	75,0
BC_2	100	92,2	87,5
BC_3	150	98,0	93,7
BC_4	300	99,0	96,9

По данным:(Hospital, 2005)

2) Пирамидирование генов - (marker-assisted pyramiding) Пирамидирование генов определяется как метод, направленный на объединение нескольких желаемых генов от нескольких родителей в единый генотип. Наиболее широко пирамидирование применяется для объединения нескольких генов устойчивости к болезням в одном генотипе, поскольку с течением времени из-за появления новых рас патогены часто преодолевают устойчивость к одному гену сорта. Некоторые данные свидетельствуют о том, что комбинация из нескольких генов – эффективная стратегия против определенных рас патогена, которая может обеспечить длительную устойчивость (Kloppers & Pretorius 1997; Singh et al. 2001). Способность патогена преодолевать два или более эффективных гена с помощью мутации считается значительно более низкой по сравнению с устойчивостью, контролируемой одним геном. В прошлом было трудно пирамидировать множественные гены устойчивости, потому что они проявляют один и тот же фенотип, и требуют проведения специального гибридологического теста. В тоже время с помощью ДНК-маркеров можно легко определить количество генов устойчивости в любом растении. Теоретически, MAS можно использовать для пирамидирования генов от нескольких родителей (то есть популяций, полученных из нескольких скрещиваний).

D.G. Bonnet с соавт. (2005) удалось передать в мягкую пшеницу гены устойчивости к болезням (*Sr2*, *Lr37*, *Yr17*, *Sr38*), вредителям *Cre 1*, гены карликовости (*Rht-B1b*, *Rht8*) и гены, определяющих качество зерна (*Glu-B1*, *Glu-D1*, *Glu-A3*), которые сочетались в одном генотипе. В США в сорта пшеницы перенесены гены *Lr21*, *Lr39(41)*, *Lr47* и *Lr37*c, для этого использовалась технология маркер-вспомогательного беккросса. О результатах работы по пирамидированию 5 генов устойчивости к болезням *Lr19*, *Lr34*, *Sr2*, *Sr26*, *YrSp* и 2 локусов количественных признаков QYr, sgi-7D QYr.sgi-2B, сообщал Sydenham с соав. (2007). С помощью пирамидирования созданы линии и сорта мягкой пшеницы в Индии, несущие сочетание генов *Lr19* и *Lr24* (Singh et al., 2004b), (*Lr32* + *Lr28)*, (*Lr9* + *Lr24* + *Lr28)*, (*Lr28* + *Lr48)*, (*Lr24* + *Lr48*) (Prubhu, Tiwary, 2007). Во Франции созданы линии

пшеницы с генами *Lr1*, *Lr9*, *Lr24* и *Lr47* (Nocente et al., 2007). Линии с пирамидами генов *Lr24*, *Lr25*, *Lr28*, *Lr29*, *Lr35* и *Lr37* получены в Венгрии (Vida et al., 2009). Комбинация генов *Lr24* и *Lr19* передана в линии пшеницы в Чехии (Slikova et al., 2004).

Преимущества применения MAS могут быть использованы для ускорения селекционного процесса (Ribaut & Hoisington 1998; Morris et al. 2003). Целевые генотипы могут отбираться более эффективно, что позволяет «быстро отслеживать» определенные ценные признаки, получать перспективные линии и создавать новые сорта. Маркеры могут также использоваться в качестве замены отбора по фенотипу, что позволяет проводить отбор во внесезонных питомниках, делая более рентабельным выращивание большего числа поколений в год (Ribaut & Hoisington 1998). Еще одним преимуществом использования MAS является то, что общее количество выборки, может быть уменьшено, так как многие образцы могут быть отбракованы после MAS уже на ранней стадии селекционной программы.

Существует несколько основных критериев относительно использования ДНК-маркеров в МАС: надежность; количество и качество ДНК; метод анализа; уровень полиморфизма; и стоимость (Mackill & Ni 2001; Mohler & Singrun 2004).

а) Надежность. Маркеры должны быть тесно сцеплены с локусами-мишенями, предпочтительно менее 5 См (генетическое расстояние). Использование фланкирующих маркеров или внутригенных маркеров значительно повысит их надежность для прогнозирования фенотипа;

б) Количество и качество ДНК. Некоторые методы применения молекулярных маркеров требуют больших количеств и высокого качества ДНК, что увеличивает их стоимость;

в) Метод анализа. Уровень простоты и время, необходимое для технического исполнения, являются критическими соображениями. Очень желательны простые и быстрые методы с высокой пропускной способностью;

г) Уровень полиморфизма. В идеале маркер должен быть достаточно полиморфным т.е. способным различать разные генотипы в селекционном материале;

д) Стоимость. Маркерный анализ должен быть рентабельным.

В будущем MAS может также способствовать комбинации QTL для устойчивости к абиотическому стрессу, особенно QTL, эффективных на разных стадиях роста. Принцип метода заключается в объединении отдельных QTL, которые взаимодействуют с другими QTL (то есть эпистатическими QTL). Это было экспериментально подтверждено для двух взаимодействующих резистентных QTL, сцепленных с устойчивостью вируса желтой пятнистости риса (Ahmadi et al. 2001).

Геномная селекция (genomic selection) или геномный отбор (GS), это метод современной селекции, который позволяет проводить отбор генотипов в отсутствие данных о генах, которые влияют на признак. В отличии от MAS этот подход оценивает генетическую ценность индивида на основе большого набора информации о маркерах, распределенной по всему геному. Данная технология представляет модель прогнозирования на основе генотипических и фенотипических данных training population (TP), которая используется для получения геномных оценочных значений размножения genomic estimated breeding values (GEBV) для всех особей селекционной популяции (BP) исходя из их геномного профиля (Meuwissen et al., 2001). Этот подход стал возможным благодаря большому количеству маркеров высокой плотности, обнаруженных с помощью секвенирования генома, и новым методам высокопроизводительного генотипирования. Основная суть метода заключается в объединении данных, полученных от применения молекулярных маркеров, с фенотипическими и родословными данными (если они имеются) в попытке повысить точность прогнозирования селекционных и генотипических значений.

Важными этапами GS являются:

1) Развитие тестовой популяции с использованием разнообразной зародышевой плазмы;

2) Фенотипирование и генотипирование тестовой популяции;

3) Отбор особей, имеющих превосходящие значения GEBV, на основе их генотипических данных;

4) Использование отобранных генотипов, которые использовались в тестируемой популяции, в качестве исходных данных для модели GEBV;

5) Отбор генотипов с максимальными значениями GEBV;

6) Использование отобранных генотипов в качестве родительских форм для следующих поколений.

Для успешной реализации данного метода существует необходимость точной корреляции генотипа с фенотипом. Для фенотипирования, как правило, вводятся высокопроизводительные инструменты фенотипирования (HTPP). Для сбора точных фенотипических данных как в полевых, так и искусственных условиях в настоящий момент используются современные камеры, датчики, робототехника и компьютеры, которые позволяет получить точные данные для различных сложных признаков.

Ранние фундаментальные исследования по GS в основном проводились на животных. Стоит отметить, что по этому направлению были получены значительные успехи, особенно в селекции крупного рогатого скота (Chen et. al., 2014; Zhang et. al., 2015). В тоже время ожидалось, что GS также будет полезна и для селекции растений. Так, например, эффективность применения GS для кукурузы оказалась значительно выше, чем у MAS (Heffner et. al., 2010; Bernardo et. al., 2007), и выше, чем у традиционных методов. Применительно к гибридам зерновых культур, GS еще более эффективна, так как генотипы гибридов могут быть выведены из их инбредных родителей, что значительно снижает стоимость генотипирования (Kadam et. al., 2016; Beukert et. al., 2017). Xu et. al., (2014) использовали 278 случайно отобранных гибридов риса, полученных из 210 рекомбинантных инбредных линий (RIL) в качестве тестового набора, и предсказали 21945 потенциально-ценных для селекции гибридов. При этом урожайность у них по сравнению со средней урожайностью всех потенциальных гибридов увеличилась на 16%.

Daetwyler и соавт. (2014), проведено генотипирование 206 сортов пшеницы из 32 стран мира с применением 5568 SNP-маркеров и чипа Illumina 9K для прогнозирования устойчивости к трем видам ржавчинных болезней. По результатам исследования выявлена высокая точность прогноза по всем трём признакам.

1.8. Применение диагностических ДНК-маркеров для идентификации ценных признаков мягкой пшеницы

В настоящее время выявлено большое количество генов и QTL, контролирующих ценные хозяйственно-биологические признаки мягкой пшеницы, такие как устойчивость к биотическим и абиотическим стрессам, чувствительность к фотопериоду и потребность в яровизации, высота растения, хлебопекарные качества и др. Для идентификации многих из них созданы молекулярные маркеры. Часть из них ежегодно проходит апробацию в различных селекционных программах на разнообразных наборах линий, образцов и сортов мягкой пшеницы. Большинство маркеров являются диагностическими только в ограниченном генетическом контексте, однако некоторые из них, разработанные из последовательностей генов или чужеродных фрагментов, высоко диагностируются на различном генетическом фоне.

Изучение как генотипа, так и фенотипа перспективных линий может помочь селекционерам выбрать оптимальные родительские пары для интеграции различных ценных генов в новые сорта и тем самым повысить эффективность селекции мягкой пшеницы.

1.8.1. ДНК-маркеры, сцепленные с генами устойчивости пшеницы к возбудителю листовой ржавчины

Селекция на устойчивость к листовой ржавчине является сложной задачей, поскольку гены устойчивости преодолеваются частыми сдвигами вирулентности в результате высокой генетической изменчивости и рекомбинации в популяции

патогена. Классическим методом селекции на иммунитет является гибридологический анализ, в результате которого можно определить реализацию генов через фенотип. Однако фенотипическая характеристика некоторых генов устойчивости к листовой ржавчине осложнена отсутствием морфологических маркеров, условиями влияния окружающей среды или генетическим фоном, поэтому диагностические молекулярные маркеры нашли широкое применение для решения этой задачи. С применением ДНК-маркеров во многом были упрощены процедуры идентификации новых генов устойчивости, пирамидирования нескольких генов в одном генотипе, создание устойчивых к листовой ржавчине сортов.

На сегодняшний день у пшеницы и родственных ей видах – дикорастущих и культурных злаках идентифицировано порядка 80 генов устойчивости к листовой ржавчине (символ *Lr*) (McIntosh et al., 2015). Для выявления многих из них созданы молекулярные маркеры, а для некоторых маркеров показана диагностическая эффективность на различных сортах, селекционных линиях и генотипах пшеницы и возможность дальнейшего их применения в схемах MAS.

В таблице 1 Приложения представлен список основных молекулярных маркеров, используемых для обнаружения *Lr*-генов.

На ранних этапах для молекулярно-генетической локализации в основном использовали маркеры RAPD и RFLP (Feuillet, 2005; McIntosh et al., 2013). Известно о разработке RAPD маркеров для идентификации генов *Lr9, Lr25, Lr26, Lr48*, и RFLP маркеров для выявления генов *Lr10, Lr20, Lr23, Lr32, Lr37, Lr57, Lr58*. Маркеры RFLP, RAPD, STS – типа созданные для генов *Lr1, Lr3a, Lr9, Lr10, Lr19, Lr20, Lr21, Lr24, Lr27, Lr34, Lr35, Lr52, Lr58* и SCAR - типа для генов *Lr1, Lr35, Lr37, Lr47, Lr51, Lr57, Lr68,* остаются востребованными в работах по обнаружению этих генов в сортах и линиях мягкой пшеницы (Periyannan et al., 2011; Chhuneja et al., 2012).

Маркер STS был впервые разработан Schachermayr et al., (1994) для гена *Lr9*, полученного из *Ae. umbellulata*. Маркеры AFLP были созданы для генов *Lr*, включая

Lr3a, Lr14a, Lr61, Lr65. Описаны SCAR-маркеры, сцепленные с *Lr9, Lr19, Lr24, Lr25, Lr26, Lr28, Lr29, Lr35, Lr37, Lr66.*

Микросателлитные маркеры являются наиболее распространенными молекулярными маркерами, используемыми для картирования генов устойчивости к листовой ржавчине пшеницы. Высокий полиморфизм и воспроизводимость, низкая стоимость и наличие генетических карт высокой плотности способствуют их широкому применению в данной работе (Somers et al., 2004). На сегодняшний день известно о разработке маркеров этого вида, сцепленных с генами: *Lr12, Lr13, Lr14a, Lr15, Lr16, Lr17a, Lr18, Lr19, Lr21, Lr22a, Lr25, Lr28, Lr32, Lr34, Lr38, Lr39, Lr46, Lr47, Lr48, Lr49, Lr50, Lr52, Lr53, Lr56, Lr58, Lr60, Lr63, Lr64, Lr65, Lr67, Lr68, Lr70, Lr71, Lr72, Lr75, LrTm, LrTr, LrTt1, LrZH84, LrWo, LrTt2, LrAsp5, LrFun, LrGam6.*

С помощью молекулярного картирования идентифицирован кодоминантный маркер STS-EST *mag3092*, который показал совместную сегрегацию с геном *Lr28* (Randhawa et al., 2014). Валидация маркера с участием различных генотипов пшеницы выявила его высокую диагностическую природу и пригодность для маркерной селекции. Данный тип маркеров также создан для идентификации генов *Lr19* и *Lr46* (Ayala-Navarete et al., 2007).

Идентификация новых источников генов зависит от характеристики реакций листовой ржавчины и локализации гена в геноме пшеницы. Объемный анализ сегрегации (BSA) и анализ количественных признаков (QTL) можно использовать для генетического картирования целевого гена в геноме пшеницы, в зависимости от качественного или количественного характера признака. BSA включает сравнение двух групп линий с противоположными фенотипами, в данном случае большая часть устойчивых и большая часть восприимчивых растений, полученных от скрещивания двух родителей. Связь признака и маркера характеризуется присутствием специфического аллеля с детерминантным маркером у всех или большинства растений из устойчивой массы и отсутствием аллеля в восприимчивой массе. Рекомбинация между признаком и маркером дает генетическое расстояние между

маркером и геном, измеряемое в сантиМорганах (сМ) - длине хромосомы, через которую происходит кроссинговер с частотой один процент.

Анализ QTL является классическим подходом для идентификации локусов, связанных со сложными полигенными признаками. Локализация генов *Lr48, Lr49,* описанная Bansal с коллегами (2008), генов *Lr14a* и *Lr61* (Herrera-Foessel et al., 2008a; 2008b) является примерами картированния *Lr*-генов с использованием анализа BSA. *Lr68* был картирован на 7BL хромосоме после QTL-анализов, выполненных с использованием популяции Avocet-YrA / Parula (Herrera-Foessel et al. 2012).

Для мониторинга комплекса генов *Lr34 / Yr18 / Pm38 / Ltn* разработаны два FM (SNP) маркера *Xcssfr1* и *Xcssfr2*, которые применяются вместе в качестве кодоминантного маркера (Lagudah et al., 2009). Анализ TaqMan доступен для определения причинного SNP в *Lr34*, однако этот SNP связан с ложноположительным аллелем в сорте Jagger. Поэтому два набора SNP-маркеров использовались для того, чтобы отличить комплекс *Lr34* от ложноположительного аллеля на фоне сорта Jagger (Lagudah et al., 2009; Brown-Guedira, неопубликованные данные, 2013).

Диагностические маркеры на основе KASP (SNP), были разработаны для обнаружения генов *Lr21* и *Lr37* (Neelam et al., 2013; Seah et al., 2001). На сегодняшний день в литературных источниках отсутствует информация о создании маркеров, для идентификации генов: *Lr2a, Lr2b, Lr2c, Lr3bg, Lr3ka, Lr11, Lr14b, Lr17, Lr22b, Lr30, Lr31, Lr33, Lr36, Lr44, Lr45, Lr54, Lr55, Lr59.*

Несмотря на многообразие созданных молекулярных маркеров, применяемых для картирования генов устойчивости к листовой ржавчине, а также их широкой апробации в различных генетических популяциях (сортах, селекционных линиях, образцах и генотипах), лишь небольшое их количество применяется на практике. В основном это связано с расстоянием от маркера до искомого гена, и как правило оно является достаточно большим. Таким образом, важной задачей является идентификация более тесно сцепленных или внутригенных молекулярных маркеров для их эффективного применения в (MAS).

1.8.2. ДНК-маркеры, сцепленные с локусами, определяющими чувствительность к фотопериоду и потребность в яровизации

Одним из важнейших этапов онтогенеза растений пшеницы является переход от вегетативной к генеративной фазе развития. Активное изучение генетических механизмов перехода к стадии цветения у основного модельного растительного объекта *Arabidopsis thaliana* позволило идентифицировать и функционально охарактеризовать ключевые гены этой системы, которые осуществляют контроль над этим переходом в зависимости от различных факторов, таких как температура, длина светового дня, концентрации фитогормонов и т.д. (Jung et al., 2009). Эти гены оказывают непосредственное влияние на стадии развития растений (Потокина и др. 2012), а также определяют ряд важнейших хозяйственно-ценных признаков: структуру урожая, морозо- и зимостойкость, устойчивость к заболеваниям (Khotyljov et. al., 2002). Главными, в этом генетическом механизме, являются гены, определяющие реакцию растений пшеницы на яровизацию - *Vrn* (vernalization response) и длину светового дня - *Ppd* (photoperiod response), и (Stelmakh, 1998; Cockram et al., 2007). Сообщалось, что комбинации аллелей в локусах *Vrn-1* и *Ppd-1* приводят к изменению и физиологических и агрономических признаков, таких как сроки цветения (Iqbal et. al., 2006; Karsai et. al., 2006), кущение, число колосков и высота растений (Worland et. al., 1998; Miralles et. al., 2000; Dyck et. al., 2004).

Гены *Vrn-A1*, *Vrn-B1* и *Vrn-D1* локализованы на хромосомах мягкой пшеницы 5-й гомеологичной группы (Law et al., 1978; Galiba et al., 1995; Dubcovsky et al., 1998). Все три гомеолога функциональны, а их комбинация обеспечивает подавляющую часть биоразнообразия озимых и яровых форм пшеницы (McIntosh et al., 1998). Растения пшеницы озимого типа развития, в большинстве случаев, имеют рецессивные аллели в каждом локусе, а при яровом типе – доминантный аллель, хотя бы в одном из них. Так, доминантный аллель гена *Vrn-A1* вызывает полную нечувствительность к яровизации и является эпистатическим относительно доминантных аллелей *Vrn-B1* и *Vrn-D1*, вызывающих меньшую чувствительность к

яровизации (Pugsley et al., 1971). Таким образом, различное сочетание аллелей гомеологичных локусов *VRN1*, обуславливает широкий диапазон времени цветении у пшеницы, которые также влияют на такие признаки как, высота растений и урожайность (Goncharov et al., 1998; Stelmakh et al., 1993; Stelmakh et al., 1998). Наличие трёх доминантных аллелей, характеризуется наиболее ранним временем цветения, однако такие растения, как правило низкоурожайны. Генотипы, которые несут два доминантных аллеля, отличаются более поздним созреванием, но при этом они более урожайны. Присутствие одного доминантного аллеля генов *Vrn-B1* или *Vrn-D1* ассоциировано наиболее поздним цветением (Pugsley et al., 1971; Košner et al., 2004). Установлено, что нечувствительность к яровизации в локусе *Vrn-A1* пшеницы обусловлена мутациями в промоторной области (Yan et al. 2004), тогда как в локусах *Vrn-B1* и *Vrn-D1* это связано с большими делециями внутри первого интрона (Fu et al. 2005). Эти результаты привели к разработке аллель-специфических ДНК-маркеров для выявления наличия / отсутствия аллелей *Vrn* в гермоплазме пшеницы и понимания их роли в адаптации пшеницы в различных географических регионах (Yan et al. 2004; Fu et al. 2005). Маркеры *CDO708* и *Vrn-D3F6* / *R8* использовали для анализа аллельного состояния генов *Vrn-A1* и *Vrn-D3* и для изучения их генетических эффектов (Chen et al., 2010; Wang et al., 2009). Диагностические молекулярные маркеры предоставляют уникальную возможность для скрининга больших коллекций зародышевой плазмы пшеницы на аллельное разнообразие генов *Vrn*, поскольку их идентификация традиционными методами достаточно трудоёмкая и затратная по времени задача.

Чувствительность пшеницы к фотопериоду (продолжительности светового периода) обусловлена аллельным составом генов *Ppd1* (PHOTOPERIOD-1) (Snape et al. 2001). Гомеологичные гены *Ppd-1* расположены на коротком плече хромосом 2A, 2B и 2D и относятся к семейству (PRR) - регуляторов псевдоответа (Turner et al., 2005; Beales et al., 2007). Данные гены являются главными в процессе регуляции цветения у злаков.

Как и в случае с гомеологичными генами локуса *Vrn-1*, за нечувствительность к фотопериоду отвечает доминантный аллель *Ppd-D1a*. Эффекты нечувствительности к фотопериоду аллеля *Ppd-D1a* были тщательно изучены Worland et al., (1998) в различных регионах выращивания пшеницы; работа авторов показала, что наличие аллеля *Ppd-D1a* ускоряет время цветения и приводит к скороспелости, которая может быть использована для получения преимуществ по урожайности в неблагоприятных климатических условиях, особенно при высоких летних температурах (Kato et al., 1992; Law et al., 1997; Worland et al., 1998). Так же, этими авторами было показано, что доминантный аллель гена *Ppd–D1* имеет некоторые плейотропные эффекты, включая снижение высоты и уменьшения количество колосков в колосе.

Широкое распространение в мире, нечувствительные к фотопериоду аллели у сортов пшеницы получили после "зеленой революции". Реакция растений пшеницы на фотопериодичность становится чувствительной, при условии, что раннее цветение происходит в условиях длинного дня, и нечувствительной при, цветение как в условиях длинного, так и короткого дня. Существуют также различия между активностью трех локусов так у растений с доминантными аллелями *Ppd-A1a* и *Ppd-D1a* сроки цветения наступают раньше, чем у генотипов с аллелем *Ppd-B1a* (Bentley et al. 2011).

Важно отметить, что фотопериодическая чувствительность адаптивный признак у сортов мягкой пшеницы (Worland et al., 1998). Мутантный аллель *Ppd-D1a* нечувствителен к фотопериоду в следствии наличия делеции размером 2089 п.н п.н. выше кодирующей области гена регулятора псевдоответа (Beales et al., 2007). Worland (1996) сообщал, что присутствие доминантного аллеля *Ppd-D1a,* тесно сцепленного с геном *Rht8* снижает высоту на 10 см и ускоряет время цветения растений, сокращая их жизненный цикл в среднем на одну неделю.

Guo с соавторами (2010) провели анализ гена *Ppd-D1* у сортов мягкой пшеницы и образцов *Ae. Tauschii,* им удалось идентифицировать шесть гаплотипов, различающихся мутациями в промоторной области гена. Для каждого гаплотипа

разработаны ДНК-маркеры, и была показана разница в характере экспрессии по отношению к рецессивному аллелю *Ppd-D1b* (Guo et al. 2010). Cane et al. (2013), было обнаружено, что сочетание аллеля *Ppd-D1d* с доминантными аллелями *Vrn-A1a, Vrn-B1a* и *Vrn-D1a* влияет на удлинение периода начала колошения, тогда как аллель *Ppd-D1a* имеет прямую корреляцию времени колошения с уменьшением количества доминантных аллелей гомеологичных генов *Vrn-1*. Для дифференциации аллеля аллеля *Ppd-D1d* был разработан метод гнездовой, а также мультиплексной ПЦР (Guo et al. 2010; Cane et al. 2013).

Yang et al., (2009) разработали молекулярные маркеры для того, чтобы дифференцировать нечувствительный к фотопериодам аллель (*Ppd-D1a*) от чувствительного аллеля (*Ppd-D1b*) для гена *Ppd-D1*. Beales et al. (2007) продемонстрировали, что нечувствительность к фотопериоду в локусе *Ppd-D1a* пшеницы обусловлена делецией в 2089 п.н. выше кодирующей области. Впоследствии они разработали геноспецифические праймеры для выявления аллельной вариации в этом локусе. Используя эти ДНК-маркеры, Yang et al. (2009), было изучено распределение нечувствительного к фотопериоду аллеля *Ppd-D1a* у 926 китайских сортов пшеницы.

1.8.3. ДНК-маркеры, сцепленные с локусами, контролирующими высоту растений

Использование в селекции пшеницы генов короткостебельности *Rht* (*reduced plant height*) повышает потенциал урожайности и является одной из основных стратегий возделывания современных высокопродуктивных сортов мягкой пшеницы (Gale and Youssefian, 1985). Данные гены стали основополагающими для «зелёной революции» и привели к значительному росту урожая пшеницы в 1960-1970 годах. В настоящее время выявлено более двух десятков генов короткостебельности (McIntosh et al., 2012). Наиболее часто в селекции пшеницы используются гены *Rht1* (=*Rht-B1b*), *Rht2* (=*Rht-D1b*) (Ellis et al., 2002) и *Rht8* (Worland et al., 1998a). Их подразделяют на

две основные группы: чувствительные и нечувствительные, в зависимости от реакции данных генов на гиббереллoвую кислоту (ГК) (Keyes et al., 1989).

Гены короткостебельности *RhtB1b* и *RhtD1b*, локализованные на 4BS и 4DS хромосомах соответственно и получены из японского сорта Norin 10. Примечательно, что аллели *Rht-B1b* и *Rht-D1b* снижают чувствительность растения к гиббереллoвой кислоте, хотя количество гиббереллина в самом растении при их наличии увеличивается. Исследователями было показано, что гены *Rht-B1* и *Rht-D1* являются ортологами генов *GAI, SLR1* и *D8* обнаруженных у арабидопсиса, риса и кукурузы соответственно (Peng et al., 1999; Pearce et al., 2011). Сообщалось, что мутантный аллель *Rht-B1b* был образован в результате мутации аллеля *Rht-B1a* дикого типа, состоящей в замене нуклеотида T на нуклеотид G (Peng et al., 1999). На основе этой информации, Ellis с соав., (2002) разработали две пары праймеров для ПЦР, одна из которых BF-WR1 выявляет наличие аллеля *Rht-B1a* дикого типа, а другая пара BF-MR1 обнаруживает мутантный аллель *Rht-B1b*. Определить наличие того или иного аллеля можно только при сравнении результатов двух реакций.

В ряде исследований (Flintham et al., 1997; Gooding et al., 2012) сообщалось о корреляции ГК-нечувствительных аллелей *Rht-1* с увеличением числа падения (по Хагбергу) или снижением активности α-амилазы зерна, которые являются важными параметрами в отраслевой спецификации пшеницы по качеству. Исследования, проводимые Tan et al. (2010) по выявлению QTL, сцепленных с содержанием альфа-амилазы для зерна, позднего созревания (LMA) в популяции двойных гаплоидов пшеницы показало, что генотипы пшеницы с ГК -чувствительными аллелями *Rht-1* имеют «высокий» фенотип и выражают тяжелые уровни LMA, и напротив большинство генотипов полукарликов с одним карликовым геном *Rht-1* имеют очень низкую или несуществующую экспрессию LMA.

Также сообщалось, что аллель карликовости *Rht-B1c* (Gooding et al., 2012), а также локус на хромосоме 4D, расположенный близко к гену *Rht-D1* (Munkvold et al., 2009), играют определённую роль в механизме покоя семян. Сообщалось, что эти

нечувствительные к ГК гены связаны с эффектами уменьшения удлинения клеток, что приводит к уменьшению длины колеоптиля и снижению силы проростков (Rebetzke et al., 2001). Таким образом, эта группа генов *Rht-1* контролирует и / или связана с физиологическими процессами, которые влияют не только на высоту и урожайность растений, но и на качество зерна и силу проростков. Эти гены были впервые изучены на молекулярном уровне путем секвенирования клонов кДНК (Peng et al., 1999) мутантных аллелей, полученных из сорта пшеницы Норин 10. Однако первоначальный источник этих аллелей был получен из японского сорта Дарума (Hedden, 2003). Несмотря на экономическую и сельскохозяйственную ценность этих генов, дальнейшая характеристика этих генов на уровне ДНК с использованием традиционных методов секвенирования до настоящего времени была ограничена несколькими сортами (Pearce et al., 2011).

Исследователями из Китая были проанализированы естественные аллельные вариации трех гомеологичных локусов *Rht-A1*, *Rht-B1* и *Rht-D1* в китайской пшенице у более чем 1500 сортов и образцов зародышевой плазмы с использованием модифицированного метода EcoTILLING (Li et al., 2013). В результате данной работы было идентифицировано шесть новых аллельных вариаций *Rht-A1* (*Rht-A1b-g*), восемь новых аллельных вариаций *Rht-B1* (*Rht-B1h-o*) и шесть новых аллельных вариаций *Rht-D1* (*Rht-D1e-j*). В дополнение к этому были разработаны два ПЦР-маркера: доминантный маркер Rht-B1h.F для аллеля *Rht-B1h* и кодоминантный маркер Rht-B1h.F / 2R, который может дифференцировать гомозиготы или гетерозиготы у гаплотипов *Rht-B1a и Rht-B1h*. Благодаря применению этих маркеров аллель *Rht-B1h* был найден в зародышевой плазме *T. aestivum* ssp. Tibetanum, а также у *T. dicoccoides, T. dicoccum Schrank, and T. turgidumu* subsp. Carthlicum. Аллель *Rht-B1h* имеет очень высокую частоту (94,9%) в образцах *T. dicoccoides* из Израиля, Турции, Сирии и Ливана. Эти результаты показывают, что *Rht-B1h* произошел до образования гексаплоидной пшеницы и является более старым аллелем.

Borner et al., (1996), сообщалось о происхождении нечувствительного к гиббереллoвой кислоте мутантного аллеля *Rht-B1e* от сорта мягкой пшеницы Krasnodari 1. При сиквенировании аллелей гена *Rht-B1e* у сорта Krasnodari 1была выявлена мутация, которая также, как и в случае аллеля *Rht-B1b* состоит в замене нуклеотида А на Т (Pearce et al., 2011). Это приводит к изменению кодона Lys-61 (AAG) на стоп- кодон (TAG), при этом точка мутации аллеля *Rht-B1e* находится на три кодона раньше, чем у аллеля *Rht-B1b* (Li et al., 2012). До недавнего времени считалось, что гены *Rht-11* и *Rht-B1e* имеют различия, однако Дивашук с соавторами доказали, что аллель *Rht-B1e* и ген *Rht-11* идентичны (Дивашук и др. 2012). Аллель *Rht-B1e* также оказывает более существенное влияние на снижение высоты растений в сравнении с аллелем *Rht-B1b* (Worland et al., 1995; Pearce et al., 2011). На сегодняшний день существуют два маркера для определения наличия аллеля *Rht-B1e:* BF+WR3 и BF+MR3 (Li et al., 2012). Для работы с ними, так же, как и в случае с праймерами на аллель *Rht-B1b*, необходима постановка двух реакций ПЦР.

В работе Pearce et al., (2011) были получены нуклеотидные последовательности аллельных вариантов *Rht-B1c* и *Rht-B1e*, а также предложены молекулярные маркеры для их идентификации. Для идентификации гена *Rht-D1* Ellis с соавторами (2002) разработал ДНК-маркеры, которые позволяют выявить мутантный аллель *Rht-D1b*.

Ген *Rht-8* считается чувствительным к действию гиббереллoвой кислоты. Аллель *Rht-8*c этого гена тесно-сцепленна (0,6 сМ) с аллелем 192 п.н. микросателлитного локуса *Xgwm261*, расположенного на коротком плече хромосомы 2D мягкой пшеницы (Korzun et al., 1998) Всего обнаружено 20 аллелей данного локуса размером 164 п.н., 165 п.н., 174 п.н., 190 п.н., 192 п.н., 194 п.н., 195 п.н., 196 п.н., 200 п.н., 201 п.н., 202 п.н., 203 п.н., 204 п.н., 205 п.н., 206 п.н., 207 п.н., 210 п.н., 212 п.н., 215 п.н., 216 п.н. (Worland et al., 1998a, 1998b; Liu et al., 2005). В настоящее время аллель 192 п.н. является диагностическим для обнаружения присутствия гена *Rht-8*c.

1.8.4. ДНК-маркеры, сцепленные с локусами, определяющими качество пшеницы

Сегодня одной из наиболее сложных задач для селекционеров пшеницы является не только увеличение урожайности зерна, но и улучшение его качества для производства конечных продуктов питания (Duveiller et al., 2007). Таким образом, качество пшеницы становится основной целью селекционных программ.

Среди злаковых культур пшеница уникальна, поскольку только ее мука способна образовывать тесто, обладающее реологическими свойствами, необходимыми для широкого разнообразия пищевых продуктов. Для идентификации генов / аллелей, связанных с признаками качества мягкой пшеницы, разработаны молекулярные маркеры. В таблице 3 представлены основные ДНК-маркеры, сцепленные с этими признаками.

1.8.4.1. ДНК-маркеры, сцепленные с локусами, определяющими состав запасных белков

В тесте большинство белков превращается в глютеновый комплекс. Белки пшеницы, а именно глиадин и глютенин, являются основными компонентами глютена, который является основным фактором, влияющим на реологические и конечные свойства пшеничной муки. Белки глютенина образуют одну из самых больших белковых молекул в природе с молекулярной массой более миллиона дальтон (Wringley, 1996). Два основных класса субъединиц глютенина эндосперма пшеницы были идентифицированы на основе их подвижности в SDS-PAGE (Huebner and Wall, 1976). Это высокомолекулярные (HMW) и низкомолекулярные (LMW) субъединицы глютенина. Высокомолекулярные глютениновые субъединицы (HMW-GS) являются компонентами глютенинового полимера и, следовательно, играют важную роль в определении уникальных вязкоупругих свойств пшеничного теста. HMW-GS кодируются в локусах *Glu-1* на длинных плечах хромосом 1A, 1B и 1D, обозначенных как *Glu-1A*, *Glu-1B* и *Glu-1D* соответственно (Butow et al., 2003).

Таблица 3. ДНК-маркеры, сцепленные с признаками качества пшеницы

Фенотип	Г ен/локус	Аллель/и	Маркер	Литературный источник
Сила муки	*Glu-Al*	*Ax, Ax null, Axl, Ax2*, Ax2*B, Ay*	Аллель-специфичный	D'Ovidio, 1995; Ma, 2003; Radovanovic, 2003; Liu, 2008
	Glu-Bl	*Bx, Bx6, Bx7/Bxl7, Bx7*,Bx70E Bxl4*	Аллель-специфичный	Ahmad,2000; Ma, 2003; Radovanovic, 2003; Butow, 2003; Butow, 2004; Ragupathy, 2008; Espi, 2012
		By 8, By 9, By 16 & By null or(20)	Аллель-специфичный	Lei et al., 2006
	Glu-Dl	*Dx, Dy, Dx5, Dyl0/Dyl2*	Аллель-специфичный	D'Ovidio, 1994; Smith, 1994; Ahmad, 2000; Ma, 2003; Radovanovic, 2003; Liu, 2008
	G lu-A3	*Gl u A 3 a, b, d, e,f g, ac,*	SSR, STS	D'Ovidio 1994; Devos, 1995; Zhang, 2004; Wang, 2010
	Glu-B3		STS	Van Campenhout, 1995; De froidmont, 1998; Zhao, 2007b; Wang, 2009b
	Glu-D3	*Glu-D3allelles*	STS	Zhao, 2007a; Appelbee, 2009
Сила белка	*ω-secalin*	*Secalin-2, Glu-B3j*	STS	Francis, 1995; Koebner 1995; De Froidmont, 1998; Zhang, 2003; Chai et al., 2006
Т вёрдость зерна	*pina, pinb*	*Pina-Dla, Pinb-Dla, Pinb-Dlc, Pina-Dlr*	CAPS/STS	Giroux and Morris, 1997; Limello and Morris 2000; Morris, 2002; Chen et al., 2012
Свойства крахмала	*Wx-Al, Wx-Bl, Wx-Dl*	*Wx-Bla, Wx-Dla, Wx- Dl e, Wx-Bl, Null Wx-Bl*		Briney et al., 1998, Shariflou et al., 2001; McLauchlan et al., 2001; Nakamura et al., 2002; Yanagisawa et al., 2003; Saito et al., 2009
Полифенола ксидазная активность	*Ppo-A 1*	*Ppo-A la/b*	STS	Sun et al., 2005; Wang et al., 2009a
	Ppo-Bl	*Ppo-Bl a, Ppo-Blb*		Si et al., 2012a
	Ppo-Dl	*Ppo-Dl a, Ppo-Dla b*		He et al., 2007
Липофенол аксидазная активность	*TaLox-Bl*	*TaLox-Bla, TaLox-Blb*	STS	Geng et al., 2012
Содержание жёлтого пигмента	*Psy-Al*	*PsyAla, b*		He et al., 2008
	Psy-Bl	*Psy B la,b, c, d,e*		He et al., 2009a
	Psyl-Dl	*Psyl-Dla,*		Wang et al., 2009a
	TaZds-A 1	*TaZds-A la,b*		Dong et al., 2012
	TaZds-Dl	*TaZds-Dla, b*		Zhang et al., 2011b

Каждый локус включает два гена, связанных вместе и кодирующих два разных типа субъединиц HMW-GS, *x*-типа высокомолекулярный и *y*-типа низкомолекулярный (Payne, 1981). На основании объема седиментации SDS каждому HMW-GS был присвоен порядковый номер, а наличие определенных комбинаций этих субъединиц связано с различными аспектами качества конечных продуктов (Payne, 1987; Payne, 1981). Obukhova et al., (1997) установили, что высокое качество теста в основном определяется аллелем *Glu-A1a* (субъединица 1), тогда как низкое качество теста связано с аллелем *Glu-A1c* (нулевой аллель). Аллельные вариации в составе низкомолекулярных субъединиц глютенина (LMW-GS) также вносят вклад в качество выпечки хлеба (Khelifi and Branlard, 1992). LMW-GS кодируются локусами *Glu-3* на коротких плечах гомеологичных хромосом группы 1 (Singh, 1991). LMW-GS играют важную роль в качестве обработки хлеба и лапши, влияя на вязкость, упругость и растяжимость теста (Gupta and MacRitchie, 1994; Maucher et al., 2009). Принято считать, что глютенины в основном отвечают за вязкоупругие свойства, а глиадины важны для придания тесту растяжимости. На основании подвижности глиадинов в электрофорезе в кислом полиакриламидном геле, их можно разделить на четыре группы: α, β, γ и ω (Bushuk and Zillman, 1978). Идентификация аллельных пар, присутствующих в генотипе, обычно проводится на уровне белка путем сравнения относительной миграции глютенинов (субъединиц глютенина HMW и LMW) и глиадинов на электрофорезе в полиакриламидном геле додецилсульфата натрия (SDS-PAGE). Однако недостаток, связанный с этой техникой, заключается в том, что иногда разные субъединицы глютенина могут иметь одинаковую относительную подвижность, что приводит к неправильной идентификации некоторых аллелей, которые функционально различны (Butow et al., 2004). Из-за вышеуказанных ограничений возникла необходимость в поиске более надежных и эффективных альтернативных инструментов.

Молекулярные маркеры были разработаны для идентификации различных вариантов гена *HMW-GS*. Поскольку последовательности аминокислот различных

вариантов гена *HMW-GS* имеют сходство более чем на 80%, разработка аллель-специфических маркеров, была трудноосуществимой задачей (Zhao et al., 2006).

D'Ovidio и Anderson (1994) разработали локус-специфичные праймеры для обнаружения присутствия или отсутствия гена *Glu-A1*. Smith et al., (1994) разработали кодоминантные маркеры, которые различают гены *Dx2* и *Dx5*, облегчая идентификацию гетерозиготных линий. D'Ovidio et al. (1995) разработал маркер для одновременной амплификации генов *y*-типа из всех трех геномов. Эти маркеры также эффективны для амплификации соответствующих генов из видов диплоидных и тетраплоидных предшественников в локусах *Glu-B1*, и это позволило разработать набор основанных на ПЦР праймеров для специфического глютенина HMW (гены, кодирующие *By*-субъединицы).

Ragupathy et al. (2008) сообщили о ДНК-маркерах, специфичных для аллеля *Glu-B1al*, кодирующего субъединицу *Bx7*. Данными авторами также был разработан набор из трех кодоминантных маркеров, подходящих для MAS с высокой пропускной способностью для субъединиц глютенина HMW, кодируемых в локусах *Glu-A1* и *Glu-D1*.

Espi et al. (2012) сообщили о ДНК-маркере для дифференцирования субъединиц *Bx7* и *Bx7* * в локусах *Glu-B1*. Hai et al. (2005) изучили 69 известных генов *LMW-GS* из GenBank и классифицировал их на девять групп на основе аминокислотной последовательности высококонсервативного N-концевого домена, в результате было создано девять соответствующих маркеров, которые оказались специфичными для группы *LMW-GS*.

Ikeda et al. (2006) также создали десять группоспецифических маркеров в соответствии с опубликованными нуклеотидными последовательностями. На основе полиморфизма последовательностей между генами глютенина *LMW* был разработан глютенин-специфический маркер для скрининга сортов твердой пшеницы, а также был разработан микросателлитный маркер для генотипирования гексаплоидной пшеницы (Devos et al., 1995).

Аллель-специфические ДНК-маркеры, основанные на однонуклеотидном полиморфизме (SNP) генов γ-глиадина (*Gli-1*), впоследствии использовали для

выявления специфических аллелей, связанных с локусами глютенина *Glu-A3, Glu-B3, Glu-D3* (Zhang et al., 2003).

Шесть генов *LMW-GS* были охарактеризованы в локусе *Glu-D3* на хромосоме 1D, подобрано семь маркеров STS для амплификации соответствующих последовательностей генов у сортов пшеницы, содержащих пять аллелей *Glu-D3*, а именно: a, b, c, d и e (Zhao et al., 2006). Zhao et al., (2007a) также разработали маркеры STS на основе SNP в генах *Glu-D3* и *Glu-B3*. Чтобы охарактеризовать гены *LMW-GS* в локусах *Glu-A3* и *Glu-B3*, были созданы маркеры для аллелей *Glu-A3* (a, b, c, d, e, f и g) и *Glu-B3* (a, b, c, d, e, f, g, h и i) (Wang et al., 2010; Wang et al., 2009a).

1.8.4.2. ДНК-маркеры, сцепленные с генами, детерминирующими состав крахмала

Пшеничный крахмал образуют два основных полисахарида – амилоза и амилопектин. Поскольку амилоза и амилопектин обладают уникальными физическими и химическими свойствами, а их относительные пропорции влияют на общие свойства крахмалов, становится важным определение соотношения этих полимеров.

За синтез амилозы в зерне пшеницы отвечает связанная с гранулами крахмалсинтаза GBSSI. У мягкой пшеницы этот фермент кодируется тремя гомологичными генами Waxy (*Wx*), которые локализованы на хромосомах 7A, 7D и 4A, (Shure et al., 1983; Chao et al., 1989; Yamamori et al., 1994). В последние годы фермент GBSSI, или *Waxy*-белок был объектом многочисленных исследований (Zeng et al., 1997). Каждый из *Wx*-генов имеет несколько аллельных вариантов, однако наибольшее распространение получили аллели дикого типа *Wx-A1a*, *Wx-B1a* и *Wx-D1a*, которые не несут мутации и активно экспрессируют белок GBSSI (Yamamori et al., 1994; Nakamura et al., 1995). Нефункциональный тип аллеля этих генов - нульаллель встречается реже и приводит к снижению содержания амилозы в крахмале. Установлено, что наибольшее влияние на содержание амилозы в крахмале мягкой пшеницы оказывает ген *Wx-B1*, затем *Wx-D1* и *Wx-A1* (Yamamori et al., 1994). Наличие трех нульаллелей по генам *Wx-A1*, *Wx-B1*, *Wx-D1* приводит к

полной элиминации GBSS1, блокированию синтеза амилозы и формированию крахмала амилопектинового типа (Nakamura et al., 2002).

Измерение содержания амилозы с использованием колориметрических анализов не было точным, поэтому для разделения всех трех воскообразных белков (*Wx-A1, Wx-B1* и *Wx-D1*) использовались другие методы, такие как двумерный электрофорез в полиакриламидном геле (Nakamura et al., 1993a). Это позволило идентифицировать пшеничные мутанты, у которых отсутствовал один или несколько Waxy белков (Nakamura et al., 1993b; Yamamori et al., 1994). Необходимо отметить, что колориметрические анализы или электрофоретическое разделение белков *Wx* являются трудоемкими процессами со сложной интерпретацией результатов. В настоящее время, молекулярные маркеры позволяют идентифицировать различные аллели *Wx*-генов, в том числе и нульаллели, и используются в качестве основного инструмента в селекционных программах, направленных на производство мягкой пшеницы с модифицированным соотношением амилозы и амилопектина (Nakamura et al., 1995; Kiribuchi-Otobe et al., 1997). Shariflou et al. (2001) сообщали о разработке кодоминантного маркера для выявления мутанта, несущего делецию в гене *Wx-D1*, полученного из китайского сорта пшеницы. На основе нуклеотидных последовательностей аллелей дикого и нулевого типа был разработан набор праймеров для анализа каждого гомоаллеля GBSS1 (Nakamura et al., 2002). Эти маркеры оказались пригодны для анализа аллелей GBSS1 в образцах пшеницы из разных эколого-географических источников мира. Saito et al. (2004) использовали набор праймеров, разработанный Накамурой, для характеристики восковых мутаций в 168 линиях пшеницы из 20 стран. Yanagisawa et al. (2003) использовали SNP в гене *Wx-D1* для разработки кодоминантного маркера (dCAPS), для обнаружения аллеля *Wx-D1e*, который экспрессирует неактивную форму фермента GBSS1. Характеристика 103 аргентинских сортов пшеницы для генетической изменчивости восковых *Wx*-локусов была проведена с использованием трех наборов праймеров разработанных Vanzetti et al., (2009) и одной пары праймеров, разработанной McLauchlan et al. (2001).

1.8.4.3. ДНК-маркеры, сцепленные с признаком твёрдозёрности пшеницы

Текстура зерна пшеницы является наиболее важной качественной характеристикой, которая влияет на качество помола, выпечки и конечного использования.

Различие между твердой и мягкой пшеницей контролируется основным геном *Ha*, который присутствует на коротком плече хромосом 5D (Morris and Beecher, 2012). Было показано, что гены пуроиндолина a (*Pin-a*), пуроиндолина b (*Pin-b*) и *GSP-1*(Grain Softness Protein) тесно сцеплены с локусом *Ha* (Turner et al., 1999). Степень твердозерности пшеницы, характеризуется комбинацией аллелей генов *Pina-D1* и *Pinb-D1* (Chen et al., 2005). Известно, что пшеницы с мягкой текстурой зерна имеют гены *Pina-D1a* и *Pinb-D1a*, в то время как пшеницы с твёрдой текстурой несут мутацию в данных локусах. Так, например, точечная мутация в локусе *Pinb-D1a* привела к появлению аллеля *Pinb-D1b*, который может увеличить выход муки, понизить зольность, увеличить объем хлеба и улучшить оценку крошки зерна (Hogg et al., 2005). Однако данная мутация не влияла на время смешивания теста.

Для оценки селекционного материала пшеницы на наличие генов *Pin-a* и *Pin-b* созданы диагностические маркеры (Chen et al., 2005; Chang et al., 2006). Giroux и Morris (1997, 1998) разработали ПЦР-праймеры для последовательностей генов *Pin-a* и *Pin-b* с использованием замены одного нуклеотида в локусе *Pin-b*. Предварительные результаты показали, что у сортов пшеницы с нулевой делецией *Pin-a* зерно было более твёрдым, чем у сортов с мутацией (замена глицина на серин) (Giroux and Morris, 1998).

Tranquilli et al. (1999) разработали более надёжный, кодоминантный маркер CAPS, основанный на аналогичной точечной мутации в *Pin-b*, который можно использовать для определения текстуры зерна. Семь новых аллельных форм пуроиндолинов и пять новых форм белка GSP были обнаружены с использованием специфических ДНК-маркеров (Chen et al., 2005).

Позже, Chang et al., (2006) с помощью молекулярных маркеров и денатурирующего ПААГ изучил 102 сорта мягкой пшеницы и родственных ей

видов и выявил различные аллельные вариации (*Pin-a-D1b, Pin-a-D1p, Pin-b-null, Pin-b-D1b, Pinb-D1e, Pinb-D1, Pin-b-D1u, Pin-b-D1v, Pin-b-D1w*) у генов *Pin a* и *Pin b*.

1.8.4.4. ДНК-маркеры, сцепленные с локусами, определяющими активность полифенолоксидазы

Активность полифенолоксидазы (*PPO*) вызывает потемнение и обесцвечивание конечных продуктов, полученных из зерна пшеницы, значительно снижая качество их внешнего вида.

На сегодняшний день известно о разработке ДНК-маркеров (PPO16, PPO18, STS01 и F-8) для локусов *Ppo-D1* на хромосоме 2DL, *Ppo-A1* на хромосоме 2AL и *Ppo-B1* на хромосоме 2B, соответственно (Sun et al., 2005; He et al., 2007; Wang et al., 2009b; Si et al., 2012a). Молекулярные маркеры, связанные с активностью *PPO*, могут повысить эффективность отбора для низкой активности *PPO* в селекционных программах улучшения пшеницы.

Валидация STS маркеров на хромосомах 2A и 2D для идентификации активности *PPO* была проведена у 311 китайских сортов пшеницы (Xiao et al., 2008), 57 сортов из Индии (Singh et al., 2009a), 273 линий пшеницы CIMMYT (Liang et al., 2010). Si et al. (2012b) использовали два STS маркера (Ppo18 и STS01) для выявления аллельной изменчивости генов *Ppo* у 300 растений F_4 из скрещивания сортов пшеницы Yangmai 158 и Huaimai 18. Sun et al. (2011) охарактеризовали экспрессию гена *Ppo-A1* с использованием ДНК-секвенирования, полуколичественной ОТ-ПЦР, анализов активности *PPO* и методов окрашивания цельного зерна во время его развития. Альтернативный сплайсинг мРНК в кодирующей области *Ppo-A1* оказывал непосредственное влияние на активность полифенолоксидазы пшеницы. Различия в экспрессии генов *Ppo-A1a* и *Ppo-A1b* были подтверждены анализами активности *PPO* и окрашиванием цельного зерна, предоставляя прямые доказательства влияния альтернативного сплайсинга в кодирующей области *Ppo-A1* на активность полифенолоксидазы в зерне пшеницы.

1.8.4.5. ДНК-маркеры, сцепленные с локусами, определяющими активность липоксигеназы

Активность фермента липоксигеназы (*LOX*) обуславливает изменения реологических свойств теста и значительно улучшает его устойчивость к замесу. Кроме того, *LOX* влияет на образование белой мякоти хлеба, в следствии обесцвечивания пигментов муки (Hayward et al., 2017). Содержание желтого пигмента (*YPC*) оказывает существенное влияние на цвет продуктов, полученных на основе пшеницы (Hessler et al., 2002; Carrera et al., 2007). Так, например, ярко-желтый цвет и низкая активность *LOX* желательны для селекции сортов твердой пшеницы, так как это необходимо при производстве макаронных изделий (Carrera et al., 2007).

Geng et al., (2011) идентифицировали SSR-локусы *Xgwm251* и *Xwmc312*, которые показали значительную связь с ферментативной активностью (*LOX*). Данные маркеры оказались диагностическими, а их эффективность для оценки активности (*LOX*) и возможность применения в МАС показана на китайских сортах и линиях пшеницы. STS-маркеры *LOX16* и *LOX18*, расположенные на хромосоме 4BS, были разработаны для дифференциации сортов с более высокой и низкой активностью *LOX* (Geng et al., 2012). На основе последовательностей генов *TaLox-B2a*, *TaLox-B2b* и *TaLox-B3* для точной идентификации их аллелей создан кодоминантный маркер *Lox-B23*. Высокая активностью *LOX*, может приводить обесцвечиванию муки, а сцепленный с этим признаком локус обнаружен в хромосоме 4BS пшеницы (Borrelli et al., 1999; Hessler et al., 2002). На основании этих данных были созданы молекулярные маркеры, которые позволяют выявлять активность этого фермента у оброзцов пшеницы (Carrera et al., 2007; Zhang et al., 2015).

1.8.4.6. ДНК-маркеры, сцепленные с локусом, определяющим высокое содержание белка

Содержание белка в зерне является одним из важнейших показателей, влияющих на качество зерна и обуславливающего питательную ценность

пшеницы. Этот признак контролируется генетическими факторами, однако на экспрессию его генов значительное влияние оказывают условия окружающей среды. Локусы, сцепленные с содержанием белка, были идентифицированы на хромосомах 2A, 3A, 3D, 4 D и 7D (Prasad et al., 2003).

Ген *Gpc-B1,* определяющий высокое содержание белка в зерне пшеницы, был идентифицирован в геноме дикого вида *T. dicoccoides* и в дальнейшем перенесён в пшеницу (Deckard et al., 1996). Для его идентификации созданы диагностические маркеры, которые активно используются в селекции пшеницы (Vishwakarma et al., 2014).

С применением методов молекулярно-генетическое картирования были выявлены локусы *QGpc.ipk-7B* (Khlestkina et al., 2009) и *QGlc.ipk-5B* и *QGlc.ipk-7A* (Пшеничникова и др., 2008), сцепленные с высоким содержанием белка.

1.9. Достижения в улучшении мягкой пшеницы, связанные с применением MAS и перспективы применения ДНК-маркеров в селекции растений

Большое количество ассоциаций маркерных признаков, определенных в течение последних десятилетий, способствовало использованию молекулярных маркеров для решения актуальных задач селекции пшеницы. Технология MAS нашла широкое распространение в ряде стран. В частности, в настоящее время ведутся крупные программы в США, Австралии и в Мексике (CIMMYT).

В США в конце 2001 года был создан консорциум пшеницы, объединяющий более 20 программ по селекции пшеницы с применением MAS (http://maswheat.ucdavis.edu). Цель этого проекта состояла в интеграции MAS в селекционные программы (Dubcovsky, 2004). В рамках этого была использована стратегия по передаче 27 различных генов устойчивости к болезням и насекомым-вредителям, 20 аллелей, оказывающих положительное влияние на качество хлеба и макаронных изделий для 180 линий пшеницы, адаптированных к основным районам возделывания. Эти программы привели к получению 45 линий зародышевая плазма которых несла ценные признаки, переданные с применением MAC (Sorrells, 2007). Улучшение генетического разнообразия, включало передачу

следующих генов: *pinB-D1b* для текстуры зерна, *Gpc- B1* / *Yr36* для содержания белка и устойчивости к жёлтой ржавчине, *Lr47* для устойчивости к листовой ржавчине, *Lr37/Yr17/Sr38* для устойчивости к трём видам ржавчины, *H13* для устойчивости к гессенской мухе. Ген устойчивости *Yr15* и пирамида из генов *Lr37/Yr17/Sr38* также были переданы в сорт мягкой пшеницы Экспресс. Некоторые из полученных линий с улучшенной зародышевой плазмой успешно применялись для создания коммерческих сортов. Одним из первых в рамках этой программы был создан сорт твердой яровой пшеницы Патвин, полученный с применением MAS в Калифорнийском университете имени Дэвиса. Данный сорт несёт ген устойчивость к жёлтой ржавчине *Yr17* и ген устойчивости к листовой ржавчине *Lr37* (Hospital, 2009). Позднее был создан сорт твёрдой яровой пшеницы Лассик, который сочетает высокое содержание белка и качество клейковины с устойчивостью к ржавчинным болезням, и несёт пирамиду генов *Glu-A11*, *Glu-D15*$_{5+10}$, *GPC-B1*/*Yr36* и *Lr37*/*Yr17*/*Sr38*(http://www.plantsciences.ucdavis.edu/plantbreeding/main/history.htm). Получен сорт мягкой пшеницы Каталдо, с геном устойчивости к гессенской мухе *H25*. Также одним из первых сортов, созданных с помощью ДНК-маркеров, является сорт Фарнум (WA7975), несущий *Gpc-B1* и ген устойчивости к жёлтой ржавчине *Yr36*. С применением MAS получен сорт твердой пшеницы Вестмор с геном *Yr36*, который также коммерчески доступен для американских производителей пшеницы (Brevis and Dubcovsky 2008). Сорт твердой пшеницы UC1113, полученный с помощью MAS и устойчивый к Ug99, несёт гены устойчивости к листовой и стеблевой ржавчинам *Lr19* и *Sr25* соответственно.

Аналогичная программа в Австралии включала улучшение 20 различных признаков (включая устойчивость к некоторым абиотическим стрессам) и уже привела к созданию нескольких улучшенных сортов (Eagles et al., 2001). Одним из направлений работы была передача устойчивости к нематоде (*Anguina tritici*). В силу того, что устойчивость к вредителям имеет более сложную структуру, чем устойчивость к болезням, решение этой проблемы классическими методами являлось неэффективным и затратным (Ogbonnaya et al., 2001). В дополнение к этому, MAS применяли для передачи QTL с целью повышения эффективности

транспирации, а также для отбора и выбраковки нежелательных признаков, таких как жёлтый цвет муки. Австралийские ученые провели компьютерное моделирование, чтобы разработать генетически и экономически эффективную стратегию селекции пшеницы с маркерами. Это исследование включало интеграцию ограниченного количества возвратных скрещиваний (back-cross) и технологию удвоенных гаплоидов (DH). Использование отбора в BC_1F_1, за которым следует MAS в гаплоидах, полученных из пыльцы BC_1F_1 (до удвоения хромосом), привело к снижению стоимости размножения с маркерами до 40% (Kuchel et al., 2005). Позже эта стратегия была успешно реализована практически в программе по селекции пшеницы с маркерами с целью улучшения качества и устойчивости к ржавчинным болезням (Kuchel et al., 2007).

В CIMMYT маркеры, сцепленные с 25 различными генами, определяющими устойчивость к вредителям-насекомым, связанные с качеством белка и другими агрономическими признаками, в настоящее время используются в селекционных программах пшеницы с целью её улучшения и создания новых сортов (William et al., 2007). Некоторые маркеры были разработаны из доступных нуклеотидных последовательностей передаваемых генов и являются ценными для MAS. В будущем реализация таких проектов как IWGSC (Международный консорциум по секвенированию пшеницы) будет способствовать локализации важных для мягкой пшеницы генов и разработке «совершенных маркеров» для их интеграции в различных схемах MAS (Lange et al., 2001; Radovanovic et al., 2003). Более 20 информативных маркеров, сцепленных с генами *Rht*, *Ppd*, *Vrn*, а также с генами устойчивости к различным патогенам используются для отбора генотипов, их содержащих, и дальнейшей передачи полезных генов в сорта пшеницы. В результате данной программы в 2009 году было протестировано около 30000 растений и получено 75000 единиц данных. Важным направлением проекта является селекция на устойчивость к стеблевой ржавчине, в частности к расе Ug99, которое включает создание исходного материала с сочетанием генов *Sr25*+*Sr26*; *Sr25* и других.

В Канаде запущена крупная программа по интеграции технологии молекулярных маркеров в традиционные селекционные методы (William et al. 2007). Во время начальной фазы этой программы были локализованы молекулярные маркеры, сцепленные с различными агрономически важными признаками. На втором этапе отобранные маркеры применялись для эффективной передачи желательных признаков, таких как локусы устойчивости к фузариозу колоса *Fhb1*, *Fhb2*, гены устойчивости к листовой и стеблевой ржавчинам *Lr34/Yr18*, *Sr30*, *Sr24/Lr24*, ген устойчивости к пыльной головне *Bt10*, локус высокого содержания белка *Gpc-B1* и другие. Эта работа уже привела к созданию двух сортов, включая Lillian (2005), обладающего геном высокого содержания белка *Gpc-B1*, и Goodeve (2009), обладающего геном устойчивости *Pm-1* (DePauw et al., 2005; DePauw et al. 2009).

В Индии Совет по сельскохозяйственным исследованиям (ИКАР) профинансировал две многоцелевые программы, а именно: "Молекулярное размножение" и "Пирамида генов". Каждый проект направлен на улучшение пшеницы и имеет в распоряжении как селекционные центры, так и биотехнологические лаборатории по всей стране. Идентифицированы молекулярные маркеры, сцепленные с признаками высокого содержания белка, устойчивости к предуборочному прорастанию, продуктивностью и устойчивостью к различным патогенам, которые эффективно используются для интрогрессии QTL/генов в пшеницу (Kumar et al., 2009).

В Европе программы внедрения молекулярных маркеров в селекцию пшеницы применяются в течение многих лет. Используются маркеры, сцепленные с более чем 50 различными локусами. В основном это устойчивость к вирусам, устойчивость к болезням, гены, отвечающие за яровизацию и фотопериод (*Vrn1*, *Vrn* 2, *Vrn* 3 и *Ppd*), гены карликовости (*Rht1*, *Rht*2 и *Rht*8), локусы, связанные с качеством, в частности, *HMW* глютенины и другие. В последние годы актуальным стало изучение локусов устойчивости к фузариозу колоса (*Fhb1* и *Fhb2*). Ежегодно проводятся анализы на более чем 100000 маркеров, и этот показатель постоянно

растёт (Pierre Devaux, Florimond Desprez, France and Jean-Pierre Martinant, Limagrain, France).

Локусы, которые в настоящее время отслеживаются с применением молекулярных маркеров в различных селекционных программах, представлены на рисунке 3. На рисунке показано более 60 различных локусов, расположеных на хромосомах мягкой пшеницы и связанных с различными ценными признаками, к которым подобраны эффективные молекулярные маркеры. Также видно, что некоторые из хромосомных плеч несут множество связанных локусов, которые отслеживаются через MAS. Рекомбинация в этих регионах особенно важна, так как желательные аллели в этих локусах часто могут быть сцеплены.

В настоящее время прогнозируется, что ряд сложившихся факторов должен привести к более широкому внедрению MAS в селекцию растений. Во-первых, это степень внедрения ДНК-технологий. Многие селекционные институты и центры в настоящее время обладают оборудованием и опытом, необходимыми для генотипирования маркеров. Наряду с этим существует огромное количество уже изученных данных, которые могут быть использованы в MAS. Во-вторых, появилась концепция сочетания методов картирование QTL одновременно с получением сортов с помощью MAS (Tanksley, 1996). Некоторые из таких примеров – сорта Toojinda, (1998) и Castro, (2003), в создании которых применялось и картирование QTL, и селекция MAS. Использование беккросса и разработка почти изогенных линий (NIL) могут быть особенно полезными в этом контексте (Stuber et al., 1999; van Berloo et al., 2001). В идеале QTL картирование и разработка маркеров с помощью изогенных линий должны всегда рассматриваться вместе, в единой схеме. В-третьих, MAS можно использовать для прямого отбора потомства, обладающего трансгенами, посредством отбора целевых генов. В-четвертых, быстрый рост и количество данных, полученных из исследований функциональной геномики, привели к идентификации многих генов-кандидатов по многочисленным признакам. Идентифицированные SNP в генах-кандидатах могут быть чрезвычайно полезны для картирования ассоциаций маркер – признак и в конечном итоге для MAS (Gupta et al., 2005; Breseghello & Sorrells, 2006).

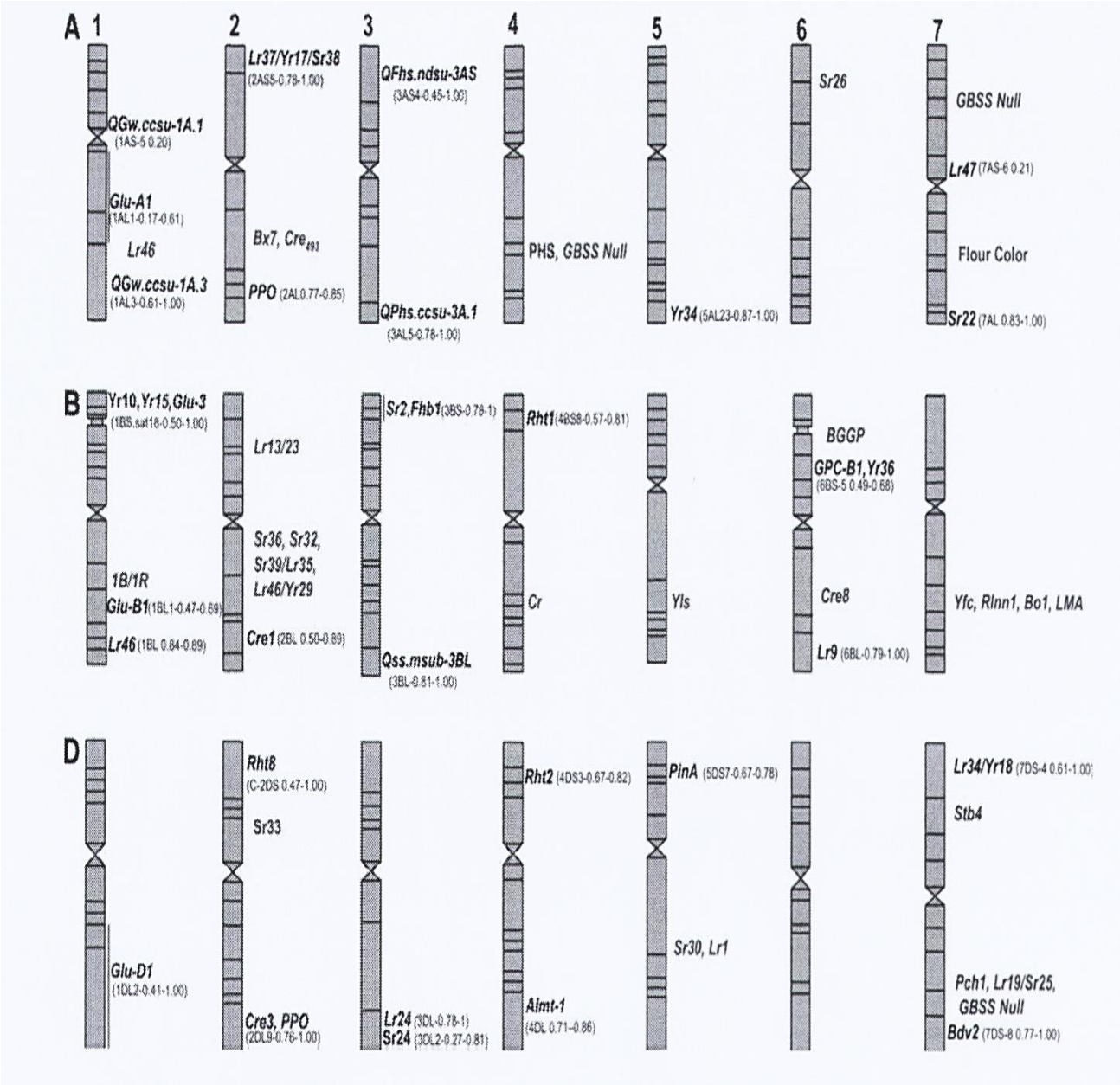


Рисунок 3. Локусы, выявляемые с помощью молекулярных маркеров в программах по селекции мягкой пшеницы (на основе информации из проекта Wheat CAP [http://maswheat.ucdavis.edu/]; Австралийской программы по применению молекулярных маркеров для озимых зерновых культур и предпринятых проектов в Индии). *Glu*-локусы высокомолекулярного глютенина, *Lr*-устойчивость к листовой ржавчине, *Yr* - устойчивость к желтой ржавчине, *Sr* - устойчивость к стеблевой ржавчине, *Cre* - устойчивость к нематодам из цист злаков, *Rht* – гены карликовости, *Fhb* - устойчивость к фузариозу кололса, *Cr* - устойчивость к корневым гнилям, *PHS* – устойчивость к предуборочному проростанию, *AlmT* - толерантность к алюминию, *Yls* - устойчивость к желтой пятнистости листьев, *Pin* - твердость зерна, *Gpc* - содержание белка , *Yfc* - желтый цвет муки, *Rlnn* - устойчивость к нематодам, *Bo* - толерантность к бору, *Pch* - устойчивость к *Pseudocerosporella herpotrichoides*, *Bdv* – устойчивость к желтой карликовости ячменя, *Stb4* – устойчивость к септориозу, *Bx7* - ген высокомолекулярной субъединицы глютенина, *BGGP* - бета-1-3-галактозил-о-гликозил-гликопротеин, *GBSS* - локусы связанные с гранулами синтазы крахмала, *LMA* - а-амилаза позднего созревания, *PPO* активность фермента полифенолоксидазы, *Gw.ccsu-1A.1* и *Gw.ccsu-1A.3* - QTL сцепленные с весом зерна, *QPhs.ccsu-3A.1*— QTL устойчивости к предуборочному прорастанию, *Qfhs.ndsu-3AS* - QTL сцепленный с устойчивостиью к фузариозу.

Этот подход позволяет обойти необходимость построения карт сцепления и проведения анализа QTL для новых генотипов, которые ранее не были картированы, хотя для валидации маркера рекомендуется проводить генотипирование и фенотипирование сегрегирующих популяций (например, F_2 или F_3) (Breseghello & Sorrells 2006).

Кроме того, проекты секвенирования генома у различных видов сельскохозяйственных культур предоставили значительные данные, которые могут быть черезвычайно полезны для картирования QTL и разработки маркеров (Varshney et al., 2005). В-пятых, было разработано много новых высокопроизводительных методов выделения ДНК и особенно новых высокопроизводительных маркерных платформ генотипирования (Syvanen 2001, 2005). В настоящее время для многих культур наблюдается тенденция к использованию высокопроизводительного оборудования для генотипирования маркеров SSR и SNP, однако их стоимость может быть выше, чем стоимость стандартных методов (Brennan et al., 2005). Некоторые из таких платформ генотипирования используют флуоресцентно меченые праймеры, которые обеспечивают высокий уровень мультиплексирования (Coburn et al., 2002). Ряд авторов прогнозирует, что маркеры SNP из-за их широкого распространения и потенциально высокого уровня полиморфизма в будущем будут иметь большое значение для MAS (Rafalski, 2002; Koebner & Summers, 2003). Методы на основе массива, такие как DArT (Jaccoud et al., 2001), и обнаружение однофункционального полиморфизма SNP (Hazen&Kay, 2003; Rostoks, 2005), открывают перспективы для использования более дешевой маркерной технологии, которую можно использовать для сканирования всего генома. Наконец, наличие большого количества общедоступных маркеров и параллельная разработка удобных для исследователя баз данных несомненно будут способствовать более широкому использованию MAS.

Что касается зерновых, то имеются две наиболее обширные и полезные базы данных — это «Gramene» и «GrainGenes» (Ware, 2002a, b; Matthews et al., 2003). Разработка и курирование этих и других баз данных будет иметь решающее

значение для эффективного использования маркеров в будущем (Lehmensiek et al., 2005). В то же время стоимость MAS будет оставаться основным препятствием для его широкого применения в селекции растений. Следует отметить, что оценки стоимости MAS могут изменяться в зависимости от количества проводимых анализов. Исследование Dreher et al., (2003) показали, что затраты могут уменьшаться по мере увеличения количества проб и / или маркерных анализов из-за эффекта масштаба и отсутствия делимости для многих компонентов MAS. Одной из текущих тенденций является создание компаний по генотипированию маркеров, что позволит осуществлять аутсорсинг в этом направлении. Предполагая, что затраты на генотипирование при аутсорсинге дешевле, а логистические проблемы не создаются или являются минимальными, это может предоставить селекционным программам больше возможностей. Кроме того, некоторые новые высокопроизводительные методы генотипирования SNP и др. также могут быть сопоставимы или даже дешевле, чем существующие методы, однако для покупки специализированного оборудования требуются большие первоначальные инвестиции (Chen&Sullivan, 2003).

Учитывая огромный потенциал MAS в селекции растений, должны быть разработаны и решены определённые задачи для достижения ощутимого результата в данном направлении. В краткосрочной перспективе наиболее важными задачами, которые должны реализовать потенциал MAS, являются:

- более высокий уровень интеграции между традиционной селекцией, картированием / валидацией QTL и MAS,
- тщательное планирование и точное выполнение исследований по картированию QTL (особенно для сложных количественных признаков), а также валидация результатов до MAS;
- оптимизация методов, используемых в MAS, таких как выделение ДНК и генотипирование маркеров, особенно с точки зрения снижения затрат и эффективности;
- создание эффективных систем хранения полученных данных (от собственных лабораторных до общедоступных баз данных).

Как правило, инновации могут играть важную роль в достижении практических результатов от применения MAS. Dekkers & Hospital (2002) заявили, что существуют широкие возможности для инновационных схем селекции растений, специально разработанных для использования ДНК-маркеров, которые могут привести к совершенно новой парадигме селекции растений.

2. УСЛОВИЯ, МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

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

Почвы опытных полей – сверхмощные, малогумусные западнопредкавказские черноземы. Содержание гумуса в пахотном слое составляет 3,2-3,6%. Климат умеренно-континентальный. Среднегодовая температура составляет +10,8^0. Среднегодовое количество осадков – 600 мм. Погодные условия в годы проведения исследований характеризовались относительной контрастностью, но в целом были благоприятны для получения требуемых результатов.

В полевых условиях семена высевали сеялкой на шестирядные делянки 1м^2, с междурядьями 15 см. Посев конкурсного сортоиспытания сортов мягкой пшеницы Вызов, Кулич и Данко в годы исследований проводили в оптимальные сроки сева, централизованным высевом на делянки площадью 9 м^2, с нормой высева 5 миллионов всхожих зерен на 1 га.

2.1. Растительный материал

Исходным материалом для исследования служили:

- синтетические формы мягкой пшеницы *T. miguschovae,* Авродес, Авролата, RS1, RS6 и RS7 созданные в отделе биотехнологии НЦЗ им. П.П. Лукьяненко;
- интрогрессивные линий мягкой пшеницы, полученные в результате скрещивания синтетических форм с восприимчивыми к листовой ржавчине сортами мягкой пшеницы Краснодарская 99, Аврора, Кавказ, Безостая 1 и Скифянка;
- сорта, линии и гибридные растения мягкой пшеницы, созданные в отделе селекции и семеноводства пшеницы и тритикале НЦЗ им. П.П. Лукьяненко.

2.1.1. Характеристика применяемых гексаплоидных синтетических форм

Геномно-добавленная форма *T. miguschovae* **(**GGAADD**)** создана в результате спонтанной мутации в F_2 у амфидиплоида, полученного от скрещивания *T. militinae* с устойчивой к листовой ржавчине формой *Ae. squarrosa* (Жиров, 1980). Этот синтетический гексаплоид обладает высокой фертильностью, компактным колосом и относительно легким вымолотом зерновок (рис.4). Синтетическая форма пшеницы устойчива к листовой, стеблевой, желтой ржавчинам и мучнистой росе, фузариозу колоса, а также к различным видам пятнистостей возбудителями которых являются *Purenophora tritici-repentis* (Died.), *Helminthosporium sativum*, *Zymoseptoria tritici* (Давоян, 1988; Давоян и Беспалова, 2005).

Рисунок 4. Растение синтетической гексаплоидной формы *T. miguschovae*, поле, 2019 г.

Геномно-замещенная форма Авродес (BBAASS) создана путем замещения генома D сорта Аврора на геном S *Ae. speltoides* (Жиров, Терновская, 1984). Мейоз у этой формы протекает со значительным отклонением от нормы, которое характеризуется образованием унивалентов, тривалентов и квадривалентов. У растений F_1 большинство хромосом в мейозе образуют биваленты и поливаленты. Это свидетельствует о том, что в замещении генома D была вовлечена активная в подавлении гена *Ph* форма *Ae. speltoides*. Авродес проявляет абсолютную устойчивость к листовой, стеблевой, желтой ржавчинам и мучнистой росе, а также отличается высоким содержанием белка до 22%.

Геномно-замещенная форма пшеницы Авролата (BBAAUU) была создана посредством гибридизации образца вида *Ae. umbellulata* с пентаплоидными растениями сорта Аврора. Пентаплоиды были выделены путем шестикратного беккроссирования сортом Аврора гибрида F_1 полученного от скрещивания (Аврора х сорт Mutico italicum) и отбора в каждом поколении. В результате проделанной работы, удалось отобрать 3 гибрида, которые имели 21 хромосому и не содержали хромосом генома D пшеницы. С применениие метода колхицинирования, у одного изних было удвоенно число хромосом и в дальнейшем получена геномно-замещенная форма с геномом BBAAUU, названная Авролата (Жиров, 1989). Синтетическая форма Авролата устойчива к комплексу грибных болезней (листовой и желтой ржавчине и мучнистой росе). Содержание белка в зерне у неё достигает 18,9% (Жиров, Терновская, 1984).

Рекомбинантные синтетические формы (RS1, RS6, RS7). На основе созданных геномно-замещённых форм в отделе биотехнологии НЦЗ им. П.П. Лукьяненко были получены не имеющие аналогов - вторичные рекомбинантные синтетические формы. Началом для этой работы послужило предположение, что общие для всех полученных синтетиков геномы BA мягкой пшеницы могут стать основой для рекомбинационного процесса между хромосомами двух различных геномов диких видов. Таким образом, на основе использования формы Авродес, были получены новые формы, у которых геном D мягкой пшеницы замещён на

смешанный рекомбинантный геном других диких видов. Рекомбинантные формы получили название RS-синтетики (Давоян и др., 2012).

В данной работе были использованы синтетические формы RS1(GBAADS) (Авродес х *T. miguschovae*), RS6 (BBAADS) (Авродес х M. it/*Ae. tauschii*), RS7 (BBAAUS) (Авролата х Авродес) (рис.5). Формы RS1 и RS7 проявляют высокую устойчивость к листовой, жёлтой ржавчинам и мучнистой россе. RS6 резистентна к листовой и желтой ржавчинам и имеет среднюю устойчивость к мучнистой росе. Все синтетики формировали в М1 мейоза достаточно высокое среднее значение бивалентов и мультивалентов, указывающее на наличие гомеологичной коньюгации.

Рисунок 5. Растения рекомбинантных синтетических форм: а) RS1; б) RS6; (2017 г.)

2.2. Метод передачи чужеродного генетического материала

Для передачи чужеродного генетического материала, посредством применения синтетических форм использовали методы беккроссирования и отбора. Главными критериями отбора перспективных растений служили, устойчивость к болезням, высокое содержанием белка и клейковины, показатели продуктивности, технологические свойства и хлебопекарные качества, а также другие ценные признаки. После первого беккросса каждый последующий осуществлялся путем скрещивания рекуррентного сорта с устойчивыми растениями, выделенными в популяции предыдущего беккросса. В качестве сортов-реципиентов для передачи хозяйственно-ценных признаков дикорастущих сородичей были использованы сорта озимой мягкой пшеницы Краснодарская 99, Безостая 1, Аврора, Кавказ и Скифянка.

Гибридизацию проводили в условиях поля и теплицы. Кастрация пыльников цветков и опыление проводились вручную с использованием пергаментных изоляторов.

2.3. Методы оценки и отбора перспективных линий

Отбор устойчивых растений в каждом поколении проводили на искусственном и естественном инфекционном фоне популяций листовой ржавчины и мучнистой росы. При этом, учитывались фенотипические признаки отбираемого материала. В дальнейшем изучаемые линии также оценивали на устойчивость к септориозу и желтой ржавчине.

Инокуляцию растений в теплице проводили смесью уредоспор гриба собранных с поражённых ржавчиной листьев. Семена изучаемых образцов вместе с восприимчивым контролем высевались в пластмассовые сосуды. С появлением второго листочка проводили заражение и накрывали полиэтиленовыми пакетами.

Заражение популяции линий, в условиях поля, осуществляли в фазе выхода в трубку смесью уредоспор ржавчины, собранных с разных сортов пшеницы. В качестве провокационного фона и стандарта для оценки в каждой делянке третьим рядком высевался восприимчивый к листовой ржавчине сорт пшеницы. Оценка

поводилась после того, как поражение восприимчивого стандарта достигало максимальных значений (тип реакции к ржавчинам – 4, степень поражения мучнистой росой – 40%).

Классифицирование образцов по устойчивости к листовой ржавчине проводили исходя из характера проявления качественной реакции растений на внедрение патогена, с помощью шкалы Майнса и Джексона (1926) с некоторыми модификациями (табл. 4).

Таблица 4. Шкала для оценки типов реакции пшеницы на инокуляцию возбудителем листовой ржавчины

Тип реакции	Симптомы
0 - иммунность	Отсутствие видимых симптомов
01 – высокая устойчивость	Некрозы, без проявления пустул
1 - устойчивость	Урединии мелкие окружённые некрозом
2 - умеренная устойчивость	небольшие или средние урединии, окружённые некрозом или хлорозом
3 - умеренная восприимчивость	средние урединии с хлорозом или без
4 - сильная восприимчивость	Крупные урединии без хлороза

Устойчивость линий к жёлтой ржавчине определяли на естественном инфекционном фоне с помощью модифицированной международной шкалы

Гаснера и Штрайба (Gassner G., Straib W., 1932). В обоих случаях растения с типом реакции 0 относили в группу иммунных, 01 – высокоустойчивых, 1 – устойчивых, 2 – умеренно устойчивых, 3 – умеренно восприимчивых, 4 – сильно восприимчивых. Интенсивность поражения растений мучнистой росой и септориозом оценивали по шкале, предложенной Э. Гешеле, (1971). К устойчивым относили растения со степенью поражения от 0 до 20 % листовой поверхности (рис. 6), к восприимчивым относили растения со степенью поражения выше 20% (Пересыпкин В.Ф., 1979).

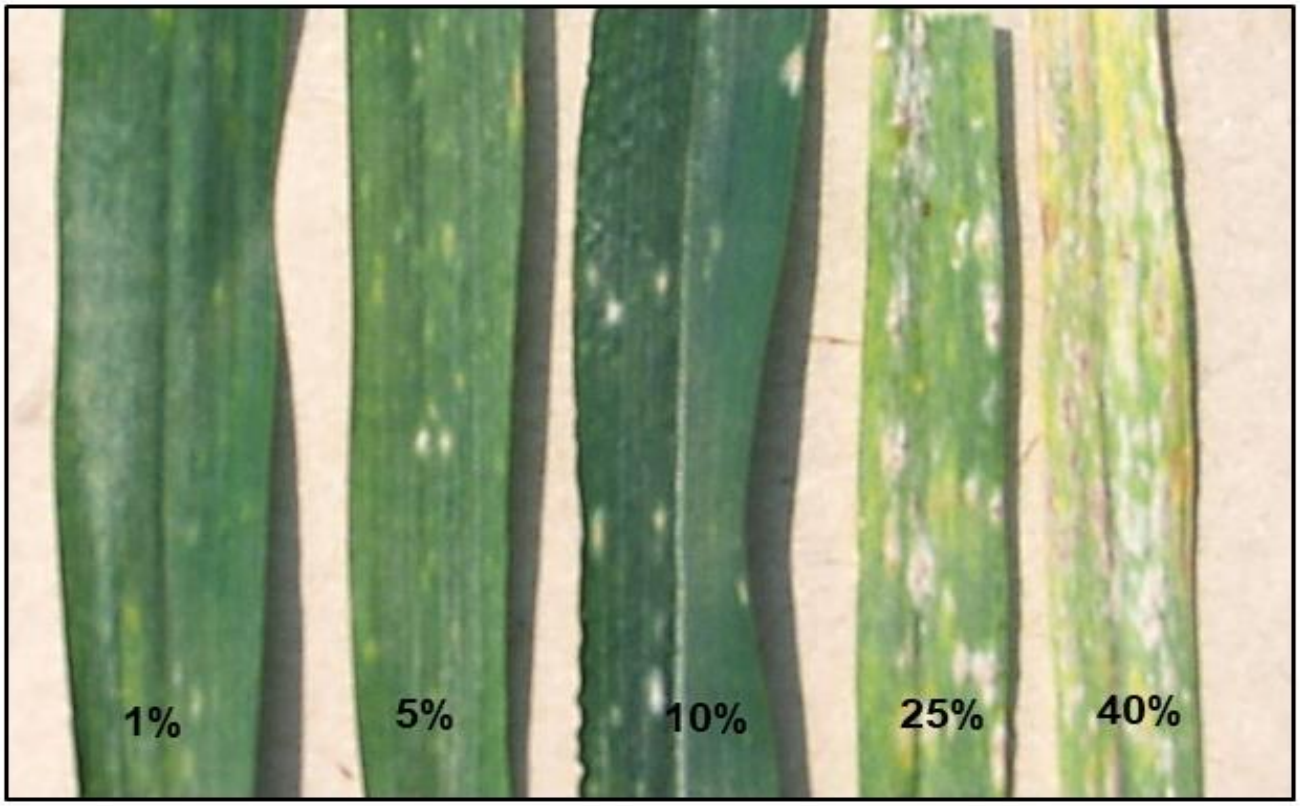


Рисунок 6. Шкала оценки поражения растений пшеницы мучнистой россой, %.

Ежегодно проводилась оценка исследуемого материала по следующим признакам: продолжительность вегетационного периода; высота растений; содержание белка и клейковины в зерне; качество клейковины; масса 1000 зерен; форма и цвет колоса и др. У лучших по фенотипическим характеристикам линий в отделе технологии и биохимии зерна НЦЗ им. П.П. Лукьяненко изучались технологические свойства и хлебопекарные качества зерна.

2.4. Гибридологический анализ устойчивости пшеницы к листовой ржавчине

Схема анализа включала: 1) определение числа и характера взаимодействия генов, обуславливающих устойчивость, для этого отобранные линии скрещивали с восприимчивым сортом Краснодарская 99; 2) идентификация генов устойчивости, посредством скрещивания линий с линиями Thatcher - носителями известных *Lr*-генов для; 3) определения аллельных отношений генов устойчивости, для этого изучаемые линии скрещивали между собой по неполной диаллельной схеме.

Гибридные растения F_2 высевались на делянки из 6 рядков. Число растений в каждом рядке колебалось от 20 до 30. Каждый третий рядок в делянке засевался в качестве контроля восприимчивым сортом. Заражение проводили в фазу колошения популяцией ржавчины. Инфекционную нагрузку составляли из расчета 20 г/га. Оценку проводили на 20-ый день после заражения. Растения с типом реакции от 0 до 2 относили к устойчивым, от 3 до 4 к восприимчивым.

Для сопоставления данных эксперимента с теоретически ожидаемыми величинами использовали критерий соответствия χ^2.

2.5. Цитологические методы исследований

Подсчёт числа хромосом в соматических клетках выполняли на временных давленых препаратах кончиков первичных корешков, приготовленных по методу Ванинге (Waninge, 1965).

Конъюгацию хромосом в мейозе в метафазе I мейоза изучали в материнских клетках пыльцы (МКП) на временных давленых препаратах пыльников. Для фиксации пыльников отбирали колосья, расположенные между вторым и третьим листами стебля, начиная от флагового листа. Пыльники фиксировали и окрашивали в ацетокармине, который приготавливали, растворяя 4 г кармина в 100 мл горячей 45% уксусной кислоты. Либо применяли другой способ окраски в уксуснокислом гематоксилине, но для этого пыльники сначала фиксировали в фиксаторе Карнуа (6 частей спирта: 3 части хлороформа: 1 часть ледяной уксусной кислоты) 24 часа, а затем переносили в красящий раствор. Постоянные препараты готовили двумя способами. В первом случае временные препараты проводили через серию спиртов

разной концентрации 45%, 70%, 96% и100% и заклеивали канадским бальзамом. При втором способе препараты, сразу после окрашивания, помещали в каплю просветляющей консервирующей жидкости, состоящей на 1/3 из глицерина, 1/3 концентрированного раствора хлоралгидрата и 1/3 из 45% уксусной кислоты. В мейозе подсчитывали число бивалентов, унивалентов и мультивалентов.

Природу переданного чужеродного материала определяли по наличию, частоте и конфигурации мультивалентов в метафазе 1 (M1) мейоза у гибридов от скрещивания отобранных интрогрессивных линий с сортом Краснодарская99.

Для проведения цитологические исследований применяли микроскоп 4 Carl Zeiss Laboval.

2.6. Метод дифференциального окрашивание хромосом (C-banding)

Дифференциальное окрашивание хромосом (C-banding) осуществляли в Институте общей генетики им. Н.И. Вавилова по методике, разработанной в лаборатории функциональной морфологии хромосом Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН (Badaeva et al., 1994). Кариотипы анализировали под микроскопом фирмы Leits — Krthoplan. Дифференциально окрашенные метафазные пластинки исследовали с использованием иммерсионного объектива 100x Apochromat, фотографировали цифровой камерой фирмы Leica KFC 280. Для составления кариотипа и редактирования фотоснимков использовали пакет программ Adobe Photoshop 7.0.

2.7. Генотипирование методом FISH (флуоресцентной *in situ* гибридизации)

Генотипирование гибридного материала мягкой пшеницы методом флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) проводили в Институте цитологии и генетики СО РАН по ранее опубликованной методике (Salina et al., 2006) с применением зондов pSc119.2 (Bedbrook et al., 1980) и pAs1 (Rayburn, Gill, 1986) для идентификации хромосом (Schneider et al., 2003), Spelt1 (Salina et al., 2004) – для выявления генетического материала *Ae. speltoides* в исследуемых линиях.

2.8. Молекулярные методы анализа

2.8.1. Метод выделение геномной ДНК из растений

Геномную ДНК пшеницы выделяли из растительной ткани с помощью коммерческого набора diaGene производство «ДИАЭМ». Образец представлял смесь ДНК, выделенной из 5-10 индивидуальных проростков одного сорта или линий, взятых в эквимоллярном количестве.

Протокол выделения:

1. Провести гомогенизацию образца (20-150 мг свежей растительной ткани или 5-20 мг высушенного растения).

1.1. Добавить пробирку для гомогенизации с соответствующим матриксом 1 мл буфера PLB-1 и 20 мкл меркаптоэтанола.

2. Центрифугировать гомогенат в течении 10 минут при 12000 об/мин. Далее, перенести супернатант в чистую 1,5 мл центрифужную пробирку.
3. Инкубировать супернатант в твердотельном термостате с функцией перемешивания (или регулярно встряхивая пробирку) в течение 20 минут при +60 ^{o}C и 400 об/мин.
4. Центрифугировать супернатант в течение 5 минут при 12000 об/мин.
5. Не затрагивая осадка, отобрать 200 мкл супернатанта, и перенести в чистую 1,5 мл центрифужную пробирку. Затем добавить 700 мкл буфера PBB-1 и тщательно перемешать.
6. Перенести 650 мкл образца в микроколонку и центрифугировать её в течение 1 минуты при 13000 об/мин. Удалить фильтрат.
7. Перенести микроколонку в новую пробирку для сбора фильтрата. Нанести на колонку 500 мкл буфера PWB-1. Центрифугировать 1 минуту при 13000 об/мин. Удалите фильтрат.
8. Повторить п.7.
9. Нанести на колонку 650 мкл буфера PWW-1. Центрифугировать 1 минуту при 13000 об/мин. Удалить фильтрат.
10. Повторить п.9.

11. Центрифугируйте пустую колонку 1 минуту при 13000 об/мин, чтобы удалить из неё остатки жидкости.
12. Перенести колонку в чистую 1,5 мл центрифужную пробирку. Внести в колонку 30-150 мкл деионизированной воды или воды, свободной от нуклеаз. При элюции 30 мкл достигается максимальная концентрация ДНК, при элюции 150 мкл – максимальный выход. Оптимальный объём элюции – 80-100 мкл. Инкубировать колонку при комнатной температуре 1-3 минуты и провести элюирование ДНК с помощью центрифугирования в течение 1 минуты при 13000 об/мин

2.8.2. Применение ДНК-маркеров для выявления генов хозяйственно-ценных признаков мягкой пшеницы

Для обнаружения генов применяли метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) с праймерами, маркирующими гены: устойчивости к листовой ржавчине *Lr9*, *Lr10*, *Lr19*, *Lr21*, *Lr22a*, *Lr24*, *Lr26*, *Lr28*, *Lr32*, *Lr34*, *Lr35*, *Lr37*, *Lr39*, *Lr38*, *Lr42*, *Lr47*, *Lr51*, *Lr50*, *Lr66*; определяющие состав крахмала *WxA1*, *WxB1 WxD1*; детерминирующие редукцию высоты *Rht1*, *Rht2*, *Rht11*, *Rht8*; чувствительность к фотопериоду и потребность в яровизации *Ppd-D1*, *Vrn-A1*, *Vrn-B1*, *Vrn-D1*. Праймеры отбирали на основании литературных данных, их названия, литературные источники и условия амплификации представлены в таблице 5.

Реакционная смесь объемом 25 мкл содержала 1× буфер для Taq-ДНК-полимеразы (50 мМ KCl, 20 мМ трис-HCl, pH 8.4, 2–5 мМ MgCl2, 0.01 % твин-20), 2 мМ MgCl2, по 0.2 мМ каждого dNTP, 12.5 мМ каждого праймера, 50 нг ДНК и 1 ед. Taq-полимеразы. Амплификацию вели согласно стандартным рекомендациям авторов с незначительными модификациями условий, указанным в таблице 5.

Продукты ПЦР разделяли с помощью электрофореза в агарозном геле с 0.5×буфером TBE. Концентрация геля варьировала от 1.8% до 2.5% в зависимости от размера амплифицированного фрагмента. Гели окрашивали бромистым этидием и фотографировали в ультрафиолетовом свете с помощью фотобокса «Infiniti 100».

Таблица 5. Условия ПЦР, названия и источники праймеров, используемых для идентификации соответствующих генов

Ген	Название праймеров	Условия амплификации фрагментов температура отжига ºС	Размер фрагмента п.н.	Литературный Источник
Lr9	*FJ13 1/ RJ`13/2*	63	1100	Schachermayer, 1994
Lr10	*Lrk10 D1/ D2*	63	282	Schachermayer, 1997
Lr19	*FGbf / RGbr*	60	130	Prinse,2001
Lr21	*Lr21*F/R	60	669	maswheat.ucdavis.edu/protocols/lr21/index.htm
Lr24	*J 09 1/2*	60	320	Schachermayer, 1995
Lr26	*SCM9/F/ R*	60	207	Weng, 2007
Lr28	CS421570-R/ L	60	570	Cherukuri, 2005
Lr32	*Barc135-F/ R*	51	273	Thomas et al, 2010
Lr34	*csLV34F/ R*	55	150	Lagudah,2006
Lr35	*BCD260F/35R2*	59	931	Seyfarth, 1999
Lr37	*Ventriup/ Ln2*	65	262	Helguera, 2003
Lr39	*GDM35-L/ R*	55	190	Pestsova, 2000
Lr47	*PS10R/ L*	61	224	Helguera, 2000
Lr50	*GDM 87F/ R*	60	110	Brown-Guedira, 2003
Lr51	*S30-13L/AGA7-759R*	52	422	Helguera et. al., 2005
Lr66	*16-S13F/ R*	52	695	Marais et al., 2010
WxA1	*AFC/ AR2*	65	370	Nakamura, 2002
WxB1	*Wx-B1L/Wx-B1R*	65	461, 495	Saito, 2009
WxB1	*4F / 4R*	65	299, 257, 227	McLauchlan, 2001
WxD1	*Wx-D1-2-F / R*	55	900	Shariflou, 2001
Rht1	*BF-WR1*	63	237	Ellis, 2002
	BF-MR1		237	
Rht2	*DF -WR2*	63	264	Ellis, 2002
	DF - MR2	58	254	
Rht8	*WMS261*	55	192	Worland, 1998

Продолжение таблицы 5

Ген	Название праймеров	Условия амплификации фрагментов температура отжига ºС	Размер фрагмента п.н.	Литературный Источник
Ppd-D1	*Ppd1_F*	54	288; 414	Beales, 2007
	Ppd1_R1			
	Ppd1_R2			
Vrn-A1	*VRN1AF*	50	965+876; 714; 734	Yan, 2004
	VRN1-INT1R			
Vrn-B1	*Intr1/B/F*	63	709; 673	Fu, 2005
	Intr1/B/R3			
	Intr1/B/F	60	1149	Fu, 2005
	Intr1/B/R4			
Vrn-D1	*Intr1/D/F*	62	1671	Fu, 2005
	Intr1/D/R3			
	Intr1/D/F	63	997	Fu, 2005
	Intr1/D/R4			

В качестве маркера молекулярной массы использовали ДНК-маркер M 24 100 bp «СибЭнзим». Для гена *Vrn-A1* продукты ПЦР фракционировали методом вертикального электрофореза в 8% полиакриламидном геле. Продукты амплификации для гена *Rht*-8 идентифицировали с применением капилярного электрофореза (QIAGENQIAxcelAdvanced, США). Для микросателлитного маркера *Xgwm261*, сцепленного с геном *Rht*-8, проводили фрагментный анализ на секвенаторе ABI3130XL (Applied Biosystems, Inc., USA).

В качестве положительных контролей для определения известных генов были использованы почти изогенные линии сорта Thatcher с генами устойчивости к листовой ржавчине *Lr9* (TcLr9), *Lr10* (TcLr10), *Lr19* (TcLr19), *Lr21* (TcLr21), *Lr24* (TcLr24), *Lr26* (TcLr26), *Lr28* (TcLr28), *Lr32* (TcLr32), *Lr34* (TcLr34), *Lr37* (TcLr37),

Lr38 (TcLr38), *Lr50* (TcLr50), *Lr51* (TcLr51), *Lr66* (TcLr66). В случае гена *Lr47* была использована ДНК образца *Ae. speltoides* 3256. Положительным контролем для определения гена *Lr39* служила линия KS93U62. В качестве отрицательных контролей использовали восприимчивые к листовой ржавчине сорта Аврора и Кавказ.

В качестве положительных контролей для выявления аллельного состояния *Wx*-генов применялись мутантные формы PI619381, PI619384, PI619376, PI619386, PI619377, PI619378 (носители нульаллелей *Wx*-генов), а также сорт Старшина селекции НЦЗ им. П.П. Лукьяненко, несущий *Wx-A1b*, и сорт Коротышка Белгородского научно-исследовательского института сельского хозяйства, имеющий аллель *Wx-B1e*.

В качестве контрольных образцов для изучения аллельных вариантов генов короткостебельности были отобраны сорта селекции КНИИСХ с известными аллелями *Rht* генов: Краснодарская 99 (*Rht-8c*), Афина (*Rht-B1b*), Ласточка (*Rht-D1b*), Гром (*Rht-B1e*) (Дивашук, 2012).

2.9. Методы статистического анализа данных

Для статистической обработки данных применяли стандартный биометрический метод однофакторного дисперсионного анализа с последующим вычислением наименьшей существенной разности (НСР) (Доспехов, 2011). Для оценки связей между признаками применяли коэффициент парной корреляции Пирсона (Лакин, 1990). Изучение комплексов признаков было основано на использовании метода многомерного статистического анализа «дискриминантного анализа», позволяющего изучать межгрупповые различия при условии минимизации внутригрупповой изменчивости. В этом случае достигались объективные оценки сходства-различия групп (Афифи и Эйзен, 1982; Кендалл и Стьюарт, 1976; Клекка У.Р., 1989).

Все вычисления выполнялись с использованием программы STATISTICA.

3. СЕЛЕКЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ИНТРОГРЕССИВНЫХ ЛИНИЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

В настоящей работе приведены результаты селекционно-генетического изучения 343 интрогрессивных линий мягкой пшеницы с генетическим материалом *T. militinae*, *Ae. tauschii*, *Ae. umbellulata*, *Ae. speltoides*, полученных с использованием синтетических форм *T. miguschovae*, Авродес, Авролата, RS1, RS6 и RS7. Для краткости изложения отобранным линиям было дано буквенное обозначение в зависимости от их происхождения (табл. 6).

Таблица 6. Наименование, происхождение и количество интрогрессивных линий

Краткое обозначение линии	Комбинация скрещивания	Поколение	Количество линий
МБ	*T. miguschovae* x Безостая 1	BC_2F_{24} - BC_5F_{20}	29
МК	*T. miguschovae* x Кавказ	BC_2F_{24} - BC_5F_{20}	44
СМБ	(*T. miguschovae* x Безостая 1) x Скифянка	BC_2F_{24} - BC_5F_{20}	48
СМК	(*T. miguschovae* x Кавказ) x Скифянка	BC_2F_{15} - BC_4F_{12}	35
АА	Авродес x Аврора	BC_2F_{24} - BC_5F_{20}	37
АБ	Авродес x Безостая1	BC_2F_{10} – BC_4F_6	24
АК	Авродес x Краснодарская 99	BC_2F_{10} – BC_4F_6	35
КАБ	(Ародес x Безостая1) x Краснодарская 99	BC_2F_{10} – BC_4F_6	12
GS	RS1 x *T. aestivum*	BC_2F_6–BC_3F_5	34
SM	RS6 x *T. aestivum*	BC_2F_7–BC_3F_6	24
SU	RS7 x *T. aestivum*	BC_2F_6–BC_3F_5	21
Итого			343

3.1. Хозяйственно-биологическая оценка интрогрессивных линий

Для того, чтобы интрогрессивные линии представляли ценность для практической селекции, они должны отвечать следующим требованиям:

1) быть цитологически стабильными и давать жизнеспособные и высокофертильные гибриды;

2) легко передавать ценный признак, как через пыльцу, так и через яйцеклетку;

3) иметь хорошие агрономические и биологические характеристики (хозяственно-биологические признаки).

В идеальном варианте линия должна обладать всеми признаками сорта-реципиента плюс признак, который в нее вводился. Естественно, ценность линии возрастет, если помимо передаваемого признака, линия будет иметь и другие улучшенные показатели по сравнению с сортом-реципиентом. Таким образом, основная задача состоит в отборе линий с хорошими сочетаниями признаков.

Для того чтобы дать оценку линиям относительно агрономических и биологических характеристик проводилось их изучение по следующим признакам: устойчивость болезням, масса 1000 зерен, высота растений, длина вегетационного периода, хлебопекарные качества зерна и др. В целом наблюдался довольно большой полиморфизм по всем признакам. Большинство линий по своим показателям уступают рекуррентным сортам, но отдельные линии, наряду с устойчивостью к болезням, имеют равные с ними и даже лучшие значения.

3.1.1. Устойчивость интрогресивных линий к болезням

Болезни пшеницы могут приводить к большим потерям урожая зерна и значительно снижают его качество. Способность возбудителей болезней мутировать и преодолевать сопротивление хозяина подталкивала селекционеров искать новые источники устойчивости к болезням. В поисках новых генетических вариаций они использовали адаптированные сорта, стародавние местные сорта, однако основной успех в расширении генетического пула эффективных генов был

достигнут с применением дикорастущих видов. Однако при межвидовых и межродовых скрещиваниях, часто наблюдается связь переданной устойчивости отрицательными признаками, с такими как удлинение вегетационного периода, ухудшение хлебопекарных качеств, склонность к полеганию, снижение урожайности и др. (Knott, 1968; Zeven & Wanige, 1986; Worland, 1988; Будашкина и др., 1990, Леонова, 2018). Это связано с тем, что интрогрессируемые от диких сородичей гены устойчивости, могут быть сцеплены с локусами, детерминирующими отрицательные признаки (Knott et al., 1977; Knot,1984). Количество нежелательных признаков зависит от характера их проявления, а также от размера и формы переноса генетического материала. Одной из наиболее подходящих для практической селекции, является форма передачи посредством транслокации. Однако и в этом случае, количество нежелательных признаков может оставаться значительным. Так, в опыте Сирса по передаче устойчивости к листовой ржавчине от *Ae. umbellulata* сорту мягкой пшеницы Chinese Spring из сорока растений, имеющих транслокации, только одно не несло нежелательных признаков, и его устойчивость хорошо передавалась через гаметы обоего пола (Sears, 1956). В тоже время известно, что гены устойчивости, передаваемые от природных сородичей, могут быть сцеплены и с положительными признаками, например, с устойчивостью к другим болезням. О тесном сцеплении гена устойчивости к стеблевой ржавчине *SrTt-1* и гена устойчивости к мучнистой росе *Pm6*, полученных от *T. timopheevii*, сообщали J.H. Jorgensen и C.J. Jensen (1972). Перенос сегмента хромосомы 1RS в виде транслокаций 1AL.1RS, 1BL.1RS и 1DL.1RS (Rabinovich, 1998;), способствует проявлению факторов резистентности, обусловленных наличием генов устойчивости к мучнистой росе, листовой, жёлтой и стеблевой видам ржавчины (Zeller & Fuchs, 1983; Mago et al., 2015). От *Ag. elongatum* переданы, сцеплены между собой гены устойчивости к листовой и стеблевой ржавчинам (*Lr24, Sr24*) и (*Lr19, Sr25*) (McIntosh R.A., 1977). Совместно с геном устойчивости к глазковой пятнистости от *Ae. ventricosa* в мягкую пшеницу была передана устойчивость к листовой ржавчине (Worland, 1988). От полученного в результате скрещивания *Ae. speltoides* x *T. monococcum* амфидиплоида, мягкой

пшенице переданы сцепленные гены, контролирующие устойчивость взрослых растений к листовой ржавчине и проростков к стеблевой ржавчине (Kerber E.R., Dyck P.L., 1990).

К числу самых вредоносных болезней пшеницы, получивших широкое распространенных по всему миру, относятся листовая ржавчина (*Puccinia. triticina* Eriks.), мучнистая роса (*Blumeria graminis* f. sp. tritici) и септориоз (*Septoria tritici* Roberge et. Desm). Наиболее прогрессирующей болезнью пшеницы, во многих зонах возделывания, является желтая ржавчина (*Puccinia striifomis* f. sp. tritici) (Wellings, 2004; Brar, 2016). Исследуемые линии ежегодно изучались по устойчивости к перечисленным выше болезням. Оценка проводилась в полевых условиях при естественном и искусственном заражении. Характеристика каждой отдельной линии по устойчивости к болезням за 2015-2019 гг. приведена в таблице 2 Приложения. Следует отметить, что для многих, из них характерно проявление групповой устойчивости к перечисленным болезням, очевидно это связано с тем, что линии наследуют устойчивость от синтетических форм.

Как видно из таблицы 7, из 343 изученных линий 306 или 89% от общего числа, несёт устойчивость к листовой ржавчине, 153 или 45% к жёлтой ржавчине, 173 линии, что составляет 50%, устойчивы к мучнистой росе, а 228 линий (67%), устойчивы к септориозу. Линии, полученные с участием синтетической формы *T. miguschovae,* имели высокий процент устойчивых к листовой ржавчине растений от 86% в линиях комбинации МБ до 94% в комбинации СМБ. Высокий процент устойчивых к мучнистой росе и септориозу линий выявлен в комбинациях МБ и СМБ. Линии, полученные с участием Авродес, также проявляют групповую устойчивость к изучаемым болезням. В комбинации скрещивания АБ из 24 линий, 18 или 75% обладали устойчивостью к жёлтой ржавчине, в то же время процент устойчивых к листовой ржавчине линий составил 58%, что было значительно ниже по сравнению с другими комбинациями. Обратная закономерность наблюдалась при оценке линий комбинации АК, где наряду с увеличением процента устойчивых к листовой ржавчине линий до 94%, отмечалось снижение числа линий, устойчивых к жёлтой ржавчине до 40%. В комбинации скрещивания КАБ отмечен

наибольший процент (83%) устойчивых к септориозу линий. Линии комбинаций GS, SM, полученные с участием двух синтетических форм, в целом имели высокий процент устойчивых к листовой ржавчине, септориозу и мучнистой росе растений. Самый низкий процент образцов, устойчивых к жёлтой ржавчине отмечен у линий GS и SU 35% и 24% соответственно. Из 21 линии комбинации SU устойчивыми к листовой ржавчине были 90%. К мучнистой росе проявляли резистентность 5 - линий, что составило 25 %, к септориозу оказались устойчивыми 19 % линий.

Таблица 7. Количество интрогрессивных линий, устойчивых к болезням мягкой пшеницы, (2015-2019 гг.)

Комбинация скрещивания	Кол-во линий, шт.	Количество линий устойчивых к болезням							
		Жёлтая ржавчина		Листовая ржавчина		Мучнистая роса		Септориоз	
		шт.	%	шт.	%	шт.	%	шт.	%
МК	44	21	48	40	91	20	45	21	48
МБ	29	14	48	25	86	19	66	21	72
СМК	35	14	40	32	91	18	51	21	60
СМБ	48	21	44	45	94	27	56	34	71
АА	37	18	49	33	89	20	54	30	81
АБ	24	18	75	14	58	12	50	15	63
АК	35	14	40	33	94	20	57	24	69
КАБ	12	6	50	11	92	8	67	10	83
GS	34	12	35	29	91	21	62	28	82
SM	24	10	42	23	96	13	54	20	83
SU	21	5	24	19	90	5	25	4	19
Всего:	343	153	45	306	89	173	50	228	67

Особый интерес для селекционной практики представляют линии, устойчивые одновременно к нескольким болезням. Результаты оценки линий по данному признаку приведены в таблице 8. В общей сложности из 343 изученных

линий, 77 были устойчивы к четырём болезням, 120 линий - к трём, 82 линии - к двум и 57 - к одной болезни. Из 44 линий МК, полученных с участием рекуррентного сорта Кавказ, устойчивость к четырём болезням проявили 4 линии, к трём болезням - 10, к двум - 13 и к одной болезни - 10 линий. Из 29 линии МБ, полученных с участием рекуррентного сорта Безостая 1, 9 были устойчивы к четырём болезням, 10 - к трём, 6 - к двум и 4 - линии к одной болезни. Тридцать пять линий комбинации скрещивания СМК распределились следующим образом: устойчивость к четырём болезням проявляли 6 линий, устойчивость к трём болезням – 16 линий, к двум – 9 линий и устойчивость к одной болезни проявили 3 линии. В комбинации СМБ, 14 линий обладали устойчивостью к четырём болезням, 18 - к трём болезням, 12 – к двум болезням и 4 - к одной болезни.

Таблица 8. Устойчивость интрогресивных линий к группе болезней (листовая и желтая ржавчина, септориоз, мучнистая роса), (2015-2019 гг.)

Комбинация скрещивания	Количество линий, шт	Восприимчивые, к болезням, шт	Устойчивые к болезням, шт			
			к одной	к двум	к трем	к четырём
МК	44	0	10	13	17	4
МБ	29	0	4	6	10	9
СМК	35	1	3	9	16	6
СМБ	48	0	4	12	18	14
АА	37	0	6	8	13	10
АБ	24	4	1	5	8	6
АК	35	0	6	7	18	4
КАБ	12	0	0	4	5	3
GS	34	0	8	8	7	11
SM	24	1	1	8	7	7
SU	21	1	14	2	1	3
Всего:	343	7	57	82	120	77

В комбинации АА отобрано 10 линий устойчивых одновременно к четырем болезням, 13 – к трём болезням, 8 – к двум и 6 к одной. В АБ из 24 изученных линий, 6 - несли устойчивость к четырем болезням, 8 – к трём, 5 - к двум, и 1 - к одной. В комбинации скрещивания АК из 35 линий отобрано 18 устойчивых одновременно к трём болезням. В КАБ все линии были устойчивы к двум и более болезням. Из 34 линий комбинации GS устойчивость к четырём болезням выявлена у 11 линий, к трём у 7 линий, к двум и к одной болезни у 8 линий. По семь линий с устойчивостью к четырем и к трём болезням отобраны в комбинации SM, 8 линий несли устойчивость к двум болезням и одна - к одной болезни. В комбинации SU большинство линий устойчивы к одной болезни – листовой ржавчине.

Следует отметить, что в виду сложившихся погодных условий нами не проводилась оценка по устойчивости к желтой ржавчине и септориозу в первых поколениях изучаемых линий. Следовательно, на первых этапах, не проводился целенаправленный отбор линий по этим признакам. Можно предположить, что устойчивость к болезням от используемых синтетических форм, передаётся блоком сцепленных генов.

Необходимо отметить, что как синтетические формы, так и рекуррентные сорта Безостая1, Скифянка и Краснодарская 99 проявляли устойчивость к местной популяции желтой ржавчины. Тогда как сорта Кавказ и Аврора, эффективно защищаемые многие годы геном устойчивости *Yr9*, в 2021г. показали себя, как восприимчивые. Вероятно, устойчивость к этой болезни у изучаемых линий может быть обусловлена наличием локусов, переданных как от синтетических форм, так и от рекуррентных сортов, а возможно и их взаимодействием. Это подтверждается различием в типах реакции и степенью поражения жёлтой ржавчиной интрогрессивных линий и рекуррентных сортов.

Выявлено 7 линий, которые не несут устойчивость ни к одной из изучаемых болезней. Так, в комбинации АБ выявлено 4 таких линии: АБ/7, АБ/8, АБ/9 и АБ/10 в СМК – линия СМК32, в SM линии SM/15 и SU/19.

В результате проведённой работы отобраны линии с устойчивостью одновременно к четырём болезням, листовой и желтой ржавчинам, мучнистой росе

и септориозу (Приложение таблица 2). В комбинации МБ таковыми были: МБ/7, МБ/9, МБ/12, МБ/11, МБ/13, МБ/18, МБ/21, МБ/29 и МБ/30; в МК: МК/1, МК/11, МК/19; в СМБ: СМБ/10, СМБ/12, СМБ/17, СМБ/19, СМБ/21, СМ/Б22, СМБ/23, СМБ/24, СМБ/25, СМБ/28, СМБ/34, СМБ/35, СМБ/40, СМБ/41 и СМБ/42; в СМК: СМК/8, СМК/9, СМК/10, СМК/14, СМК/19 и СМК/30; в АА: АА/4, АА/9, АА/10, АА/11, АА/14, АА/16, АА/27, АА/30, АА/32 и АА/36; в комбинации АБ: АБ/1, АБ/2, АБ/5, АБ/18, АБ/19 и АБ/21; в АК: АК/4, АК/10, АК/26 и АК/28; в КАБ линии: КАБ/4, КАБ/6 и КАБ/7; в комбинации GS: GS/2, GS/3, GS/4, GS/5, GS/6, GS/17, GS/19, GS/24, GS/25, GS/26 и GS/27; в SM линии: SM/2, SM/4, SM/16, SM/17, SM/18, SM/20 и SM/24; в SU: SU/1, SU/2 и SU/5.

3.1.2. Изучение интрогрессивных линий по устойчивости к листовой ржавчине

Листовая или бурая ржавчина (*Puccinia triticina* Erikss.) – широко распространенная во всём мире болезнь пшеницы, которая может наносить серьёзный урон урожайности и значительно снижать качество зерна (Riaz, 2015). На рисунке 7 представлены растения мягкой пшеницы, поражённые листовой ржавчиной на опытном участке, (2018 г.) Селекция на устойчивость к листовой ржавчине является сложной задачей, поскольку гены устойчивости преодолеваются частыми сдвигами вирулентности путем генетической изменчивости и рекомбинации в популяции *P. triticina*. Для борьбы с этой болезнью как правило используется химический и генетический контроль. Генетический контроль или создание устойчивых сортов является наиболее эффективным, экономически безопасным и экологически чистым подходом, поскольку этот метод устраняет необходимость применения фунгицидов и снижает стоимость производства. Основной стратегией обеспечения генетической устойчивости мягкой пшеницы является применение различных эффективных генов, определяющих длительную устойчивость к этому патогену.

Из известных, локализованных генов устойчивости к листовой ржавчине около половины перенесены от родственных ей видов, при этом известно, что

большинство эффективных генов происходит из генетического пула этих видов (McIntosh et al., 2013; 2015). Поэтому использование диких сородичей в качестве источников новых генов устойчивости к болезням мягкой пшеницы – одна из актуальных задач современной селекции.

Рисунок 7. Растения мягкой пшеницы, поражённые листовой ржавчиной, опытный участок, (2018 г.)

Важно подчеркнуть, что основная цель при создании интрогрессивных линий заключалась в передаче им устойчивости к листовой ржавчине. Также следует отметить, что используемые в качестве источников ценных для селекции признаков дикорастущих видов синтетические формы Авродес, RS6 и RS7 во все годы изучения имели высокий уровень устойчивость к листовой ржавчине с типом

реакции 01. Синтетические формы *T. miguschovae,* Авролата и RS1 стабильно проявляли полный иммунитет, симптомы поражения отсутствовали. В то же время сорта мягкой пшеницы Аврора, Кавказ, Безостая1, Скифянка, Краснодарская 99, служившие в качестве реципиентов, были восприимчивы к возбудителю листовой ржавчины (балл 3-4).

3.1.2.1. Оценка интрогрессивных линий по устойчивости к листовой ржавчине

Ежегодно, интрогрессивные линий и исходные родительские формы изучались по устойчивости к листовой ржавчине на фоне искусственного и естественного заражения патогеном. В рамках настоящего исследования приводятся результаты оценки за 2015 - 2019 гг. (табл. 9, табл. 2 приложения). Уровень устойчивости линий варьировал от 01 - (высокоустойчивые), до 4 - (восприимчивые). В целом мониторинг селекционного материала показал, что большинство линий (89%) несёт устойчивость к листовой ржавчине. Из них 34% линий обладают высокой устойчивостью (тип реакции 01), 35% линий являются устойчивыми (тип реакции 1), 20% - умеренно устойчивыми (тип реакции 2), и 11% восприимчивыми (тип реакции 3-4) (табл. 9). Наибольшая доля линий с высокой устойчивостью к листовой ржавчине (тип реакции 01) выявлена в комбинации скрещивания SM (RS6 x *T. aestivum*) - 14 линий или 58% от общего числа. По 17 высокоустойчивых к листовой ржавчине линий (49%), отобрано из комбинаций скрещивания СМК, АК и GS. Из 21 изученной линии комбинации SU (RS7/ *T. aestivum*) выявлена только одна линия SU/1 с устойчивостью 01 балла. Доля устойчивых линий с типом реакции 1 наиболее часто встречаются в комбинациях МК (21линия), АА (9линий), КАБ (5 линий) и SU (11 линий), что составляет 48%, 41%, 41% и 52% от общего числа линий, соответственно.

На рисунке 8 представлены колосья и флаговые листья восприимчивого к листовой ржавчине сорта Аврора, синтетической формы Авродес и устойчивых линий АА/5, АА/10.

Таблица 9. Количество линий мягкой пшеницы с различным типом реакции к листовой ржавчине, (2015-2019 гг.)

Комбинация	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

Умеренно устойчивые линии чаще встречались в комбинациях СМБ и SU – по 33 %. Восприимчивые к болезни линии (тип реакции 3-4) не были выявлены в комбинациях скрещивания СМК и СМБ. Наиболее часто восприимчивые линии встречались в комбинациях АБ -41%, GS - 18% и МБ - 15%. На рисунке 9 представлены колосья и флаговые листья синтетической формы *T. miguschovae*, восприимчивого к листовой ржавчине сорта Безостая1 и устойчивых линий МБ/3, МБ/7, МБ/8, МБ/30.

В целом разнообразие линий по степени устойчивости может свидетельствовать о различии переданного им чужеродного генетического материала и, как следствие, наличии у них разных генов устойчивости к листовой ржавчине.

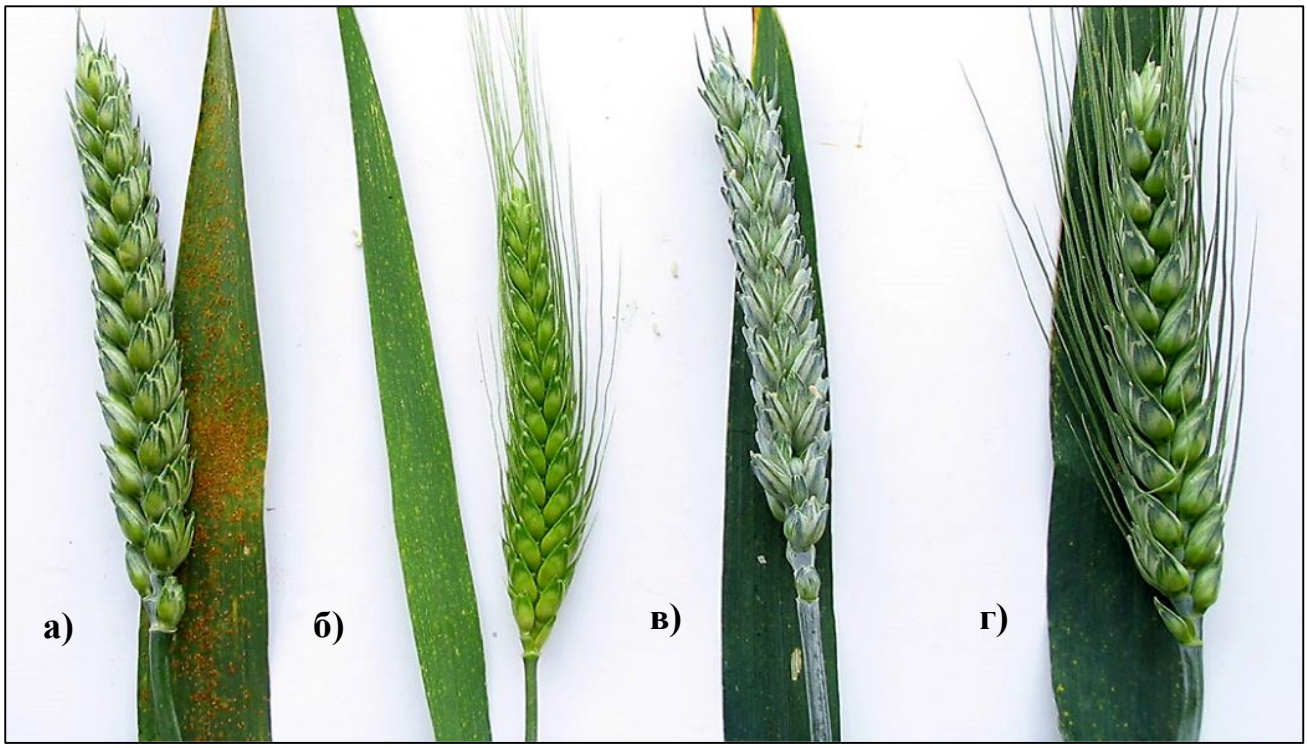


Рисунок 8. Колосья и флаговые листья: а) сорт Аврора; б) синтетическая форма Авродес; в) линия АА/5, г) линия АА/10.

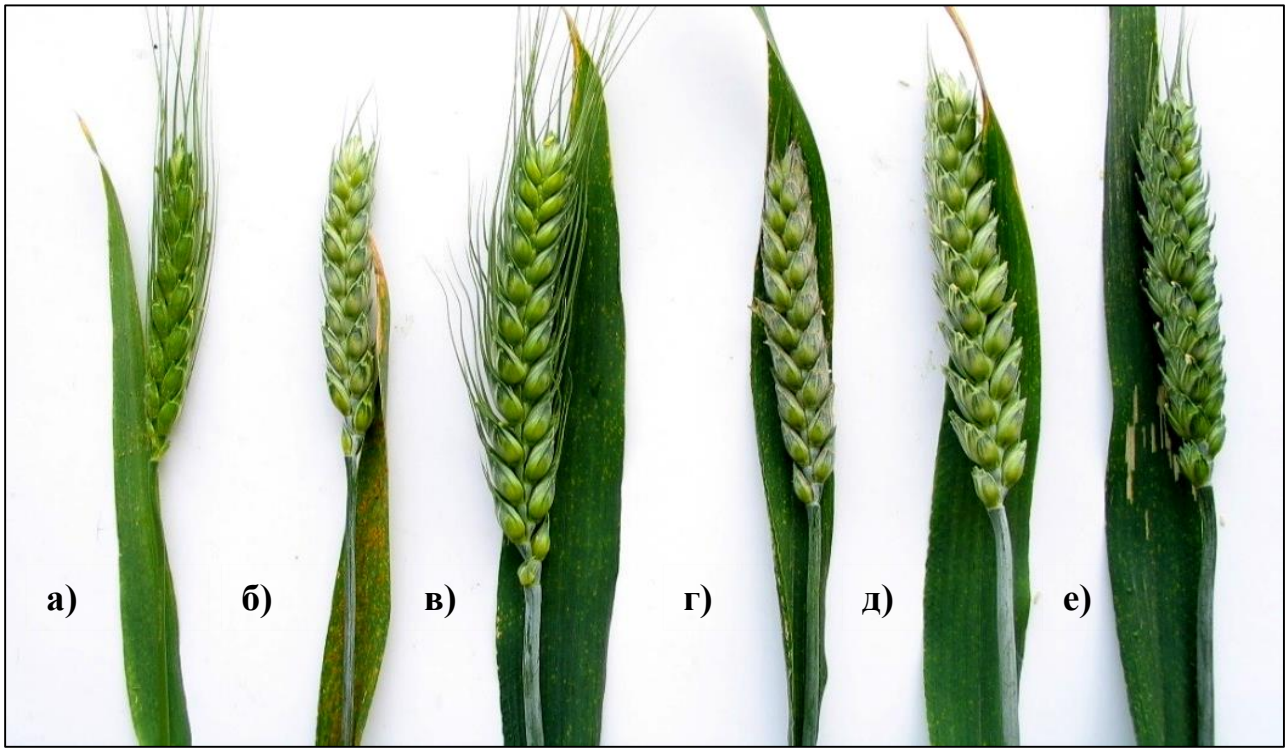


Рисунок 9. Колосья и флаговые листья: а) синтетическая форма *T. miguschovae*; б) сорт Безостая1; линии: в) МБ/3, г) МБ/7, д) МБ/8, е) МБ/30.

3.1.2.2. Гибридологический анализ устойчивости линий к листовой ржавчине

Для анализа отбиралось по три устойчивые линии: МК/1, МК/7, МК/11 из комбинации скрещивания (*T. miguschovae* х Кавказ); МБ/6, МБ/8 и МБ/12 из комбинации (*T. miguschovae* х Безостая1); АА/6, АА/10 и АА/21 (Авродес х Аврора). Выбор линий обусловлен различным типом их реакции на поражение листовой ржавчиной.

Для определения числа и характера взаимодействия генов, определяющих устойчивость каждого образца, отобранные линии были скрещены с восприимчивым сортом Краснодарская 99. Определение аллельных отношений генов устойчивости проводили путём скрещивания образцов между собой по неполной диаллельной схеме. Для того, чтобы сравнить и идентифицировать гены устойчивости к листовой ржавчине, имеющиеся у изучаемых образцов, проводили их скрещивания с тестерными линиями (почти изогенными линиями сорта Thatcher) – носителями известных *Lr* генов, переданных от дикорастущих видов.

Гибриды F_1 от скрещивания линий с сортом Краснодарская 99 были устойчивыми, что свидетельствует о доминантном проявлении признака. Исключение составили растения F_1 от скрещивания Краснодарская 99 с линией АА/10 у которых выявлена восприимчивость к болезни. Это предполагает, наличие у последней рецессивного гена или генов устойчивость к листовой ржавчине.

Число генов, контролирующих устойчивость к болезни у исследуемых линий, определяли на основе расщепления по этому признаку в популяциях растений F_2, полученных от скрещивания с сортом Краснодарская 99. Полученные соотношения классов устойчивых и восприимчивых растений были близки к теоретически ожидаемым, достоверным расщеплениям: 3:1; 9:7; 15:1 и 7:9 (табл. 10). В популяциях, полученных от скрещивания с линиями МБ/8, МБ/12, МК/7, АА/6 и АА/21 расщепление устойчивых и восприимчивых растений соответствовало отношению 3:1, следовательно, устойчивость у них контролируется одним доминантным геном. Устойчивость к листовой ржавчине у линии МК/11 обусловлена наличием двух доминантных комплементарных генов, так как расщепление по фенотипу соответствовало соотношению - 9:7.

Таблица 10. Расщепление гибридов F_2 от скрещивания устойчивых к листовой ржавчине линий с восприимчивым сортом Краснодарская 99

Комбинация скрещивания	Соотношение устойчивых и восприимчивых растений		χ^2	P
	фактическое	теоретическое		
МБ/8 х Краснодарская 99	110:41	3:1	0,11	0,75-0,50
МБ/12 х Краснодарская 99	90:35	3:1	0,16	0,75-0,50
МБ/6 х Краснодарская 99	91:9	15:1	0,55	0,50-0,25
МК/1 х Краснодарская 99	123:6	15:1	0,27	0,90-0,75
МК/11 х Краснодарская 99	53:31	9:7	0,43	0,75-0,50
МК/7 х Краснодарская 99	82:23	3:1	0,10	0,90-0,75
АА/6 х Краснодарская 99	73:29	3:1	0,64	0,50-0,25
АА/10 х Краснодарская 99	55:63	7:9	0,54	0,50-0,25
АА/21 х Краснодарская 99	104:41	3:1	0,32	0,75-0,50

К линиям с двумя доминантнми дупликатными генами относятся МБ/6 и МК/1, расщепление - 15:1. Тогда как у линии АА/10 определены два рецессивных дупликатных гена, при расщеплении, соответствующем соотношению 7:9.

Таким образом, исследуемые линии отличаются между собой как по числу генов устойчивости, так и по характеру их проявления.

Чтобы подтвердить предположение об отсутствии или наличии идентичных генов устойчивости к листовой ржавчине у исследуемых линий, они были скрещены между собой по неполной диаллельной схеме. Результаты учёта устойчивых и восприимчивых растений в F_2 приведены в таблице 11. Доминантный ген устойчивости линии МК/7 независим от генов устойчивости в линиях МК/1 и МК/11. Расщепление соответствует теоретически ожидаемому (63:1) при χ^2=0,41 и (57:7) при χ^2=0,71. В первом случае это результат взаимодействия трёх доминантных дупликатных генов, во втором – двух доминантных комплементарных генов с одним независимым доминантным геном.

В скрещивании линий МК/1 х МК/11 расщепление устойчивых и восприимчивых растений соответствует отношению 15:1, вероятно, что эти линии имеют по одному идентичному доминантному гену. Расщепление в F_2 для комбинации МБ/8 х МБ/6 близко к теоретически ожидаемому 63:1 и характерно для независимого наследования трёх доминантных генов. Аналогичное расщепление было выявлено в комбинация МБ/12 х МБ/6. В F_2 от скрещивания линий МБ/8 и МБ/12 восприимчивых растений не было обнаружено, следовательно, можно предположить, что гены устойчивости в этих линиях либо идентичны, либо тесно сцеплены и не тождественны двум доминантным генам линии МБ/6. По результатам изучения аллельных отношений генов устойчивости у линий, полученных с участием Авродес были выявлены следующие результаты. В комбинациях скрещивания АА/6 х АА/10 и АА/10 х АА/21 наблюдалось расщепление на устойчивые и восприимчивые, соответствующее 214:37 и 188:36, соответственно.

Таблица 11. Расщепление гибридов F_2 от скрещивания устойчивых к листовой ржавчине линий между собой

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

Такое расщепление близко к теоретически ожидаемому 55:9 при независимом наследовании трёх генов – одного доминантного и двух рецессивных χ^2=0,05 и χ^2=0,16. В F_2 от скрещивания линий АА/6 и АА/21 расщепления не обнаружено, что свидетельствует об идентичности генов устойчивости этих линий. Таким образом, линии, полученные на основе синтетических форм *T. miguschovae* и Авродес, могут иметь как идентичные, так и отличающиеся гены устойчивости к листовой ржавчине.

Идентификацию генов проводили путём анализа скрещивания рассматриваемых нами линий с почти изогенными линиями сорта Thatcher, носителями известных эффективных генов устойчивости, переданных от дикорастущих видов. В настоящее время известно о передаче от *T. timopheevii* (*T. militinae*) генов устойчивости *Lr18* и *Lr50*, от *Ae. tauschii* генов *Lr21, Lr22a, Lr32, Lr39, Lr42,* от *Ae. speltoides* генов *Lr28, Lr35, Lr36, Lr47, Lr51, Lr66* (Friebe et al., 1996; McIntosh et al., 2013). Таким образом, предполагалось, что данные гены могли быть переданы в линии МБ и МК от синтетических форм *T. miguschovae* и в линии АА от Авродес. К сожалению, мы не располагали линиями с генами устойчивости к листовой ржавчине *Lr42* (TcLr42), *Lr51* (TcLr51) и *Lr66* (TcLr66). Линии сорта Thatcher с генами *Lr18* (TcLr18), *Lr21* (TcLr21), *Lr22a* (TcLr22a), *Lr32* (TcLr32) имели высокую восприимчивость 3 - 4 балла (табл. 12). В то же время, тестируемые ранее интрогрессивные линии МК/1, МК/11, МБ/6, АА/6 и АА/21 устойчивы к листовой ржавчине, а линии МК/7, МБ/8, МБ/12 и АА/10 проявляли высокую устойчивость в течение всех лет изучения. Исходя из этого, в работе были использованы тестерные линии – носители эффективных генов *Lr35, Lr39* и *Lr50*, а также не эффективного - *Lr36*. Выбор гена *Lr36* обусловлен тем, что в настоящее время для его идентификации не разработаны надёжные молекулярные маркеры, поэтому обнаружить его наличие в линиях можно только с применением гибридологического анализа. Наличие расщепления во всех гибридных комбинациях, полученных от скрещивания с линиями-тестерами, позволяет считать, что исследуемые линии защищены генами устойчивости к листовой

ржавчине, отличными от генов *Lr35*, *Lr36*, *Lr39* и *Lr50* (табл. 13). Исключение составила комбинация МБ/6 х *Lr50* в которой расщепление не было выявлено. Известно, что донором гена *Lr50* является *T. timopheevii* (*T. militinae*), а геномно-добавленная форма *T. miguschovae* получена, посредством добавления генома *D* от *Ae. tauschii* соответственно к геномам AG от *T. militinae*. Следовательно, можно предположить, что геном линии МБ.6 несёт ген устойчивости, идентичный *Lr50*.

Таблица 12. Результаты оценки тестерных почти изогенных линий сорта Thatcher и интрогрессивных линий по устойчивости к листовой ржавчине, балл

Линия	2016 г.	2017 г.	2018 г.	2019 г.
TcLr18	3	2	3	3
TcLr21	4	4	4	4
TcLr22a	3	4	4	3
TcLr28	3	3	2	3
TcLr32	4	4	4	4
TcLr35	1	1	1	1
TcLr36	2	3	2	3
TcLr39	2	1	2	2
TcLr47	2	2	2	2
TcLr50	1	1	1	1
МК/1	2	1	1	2
МК/7	1	01	01	01
МК/11	2	1	1	1
МБ/6	1	1	01	1
МБ/8	1	01	1	01
МБ/12	1	01	01	01
АА/6	2	1	1	01
АА/10	01	01	01	01
АА/21	2	01	2	1

Таблица 13. Расщепление гибридов F_2 от скрещивания устойчивых к листовой ржавчине линий с тестерами *Lr35*, *Lr36*, *Lr39* и *Lr50*

Комбинация скрещивания	Соотношение устойчивых и восприимчивых растений		x^2	P
	Фактическое	теоретическое		
МБ/6 x TcLr39	217:6	63:1	0,05	0,90-0,75
МБ/6 x TcLr50	191:0	15:1	-	-
МБ/8 x TcLr39	193:7	15:1	0,47	0,50-0,25
МБ/8 x TcLr50	188:12	15:1	0,04	0,90-0,80
МБ/12 x TcLr39	224:18	15:1	0,63	0,50-0,25
МБ/12 x TcLr50	215:4	63:1	0,14	0,75-0,50
МК/1 x TcLr39	215:4	63:1	0,14	0,75-0,50
МК/1 x TcLr50	218:5	63:1	0,80	0,75-0,75
МК/7 x TcLr39	185:17	15:1	0,37	0,75-0,50
МК/7 x TcLr50	216:10	15:1	0,32	0,75-0,50
МК/11 x TcLr39	172:67	48:16	0,16	0,75-0,50
МК/11 x TcLr50	163:65	48:16	0,20	0,75-0,50
АА/6 x TcLr35	182:11	15:1	0,10	0,75-0,50
АА/6 x TcLr36	192:15	15:1	0,34	0,75-0,50
АА/10 x TcLr35	182:25	55:9	0,63	0,50-0,25
АА/10 x TcLr36	188:37	55:9	0,20	0,75-0,50
АА/21 x TcLr35	189:15	15:1	0,32	0,75-0,50
АА/21 x TcLr36	187:13	15:1	0,18	0,75-0,50

Таким образом, по итогам гибридологического анализа можно сделать вывод, что гены устойчивости к листовой ржавчине у исследуемых линий различаются между собой и, за исключением линии МБ/6, отличаются от ранее переданных известных эффективных генов *Lr39*, *Lr50*, *Lr35* и *Lr36*, наличие которых предполагалось исходя из их происхождения.

3.1.3. Оценка интрогрессивных линий по морфологическим признакам и биологическим свойствам

Изучение морфологических признаков и биологических свойств созданных линий, является необходимым этапом для их характеристики и последующего отбора. Рядом авторов отмечаются, что в процессе создания интрогрессивных линий, имеет место значительное изменение пшеничного фенотипа (Miller & Richards, 1984; Mujeeb-Kazi & Kimber, 1985; Лапочкина и др., 2000). В связи с этим изучаемые интрогрессивные линии систематично оценивались по таким признакам, как высота растений, форма колоса, продолжительность вегетационного периода, содержание белка, масса 1000 зерен и др. Следует отметить, что в исследуемом материале наблюдался широкий полиморфизм по всем изучаемым признакам.

Для сокращения объема изложения в данном подразделе представлены результаты изучения морфо-биологических особенностей у 15-ти наиболее интересных линий, отобранных из различных комбинаций скрещивания в течение трех полевых сезонов 2015, 2017 и 2019 гг. (табл. 3 приложения).

В таблице 14 показана характеристика разнообразия следующих признаков: «форма колоса», «длина колоса», «число колосков в колосе» и «число зёрен в колосе». Данные признаки определялись по главному колосу.

Длина колоса у линий варьирует от 6,2 см у линии МК/14 до 14,8 см у линии GS/3. По признаку число зёрен в колосе линии МБ/5, МК/14, МК/2, СМБ/5, СМК/16, АА/5, АА/29, КАБ/3, GS/3, SU/1 достоверно превышают стандартный сорт Аврора и находятся на одном уровне с сортом Краснодарская 99. За исключением МК/14 линий, достоверно превышающих по этому признаку стандарт не выявлено. Линия МК/14 превышает сорт Краснодарская 99 и по числу колосков в колосе со средним значением 24 шт. Значения этого показателя у линий СМК/16, АА/5 и GS/3 находятся на одном уровне со стандартными сортами, а у остальных линий значительно ниже таковых.

Таблица 14. Характеристика линий по некоторым морфологическим признакам и биологическим свойствам, (2017г.)

Название линии	Форма колоса	Длина колоса, см	Число колосков в колосе, шт.	Число зёрен в колосе, шт
МБ/1	призматическая	9,0	18,0	30,8
МБ/5	веретеновидная	8,1	15,7	44,3
МК/9	веретеновидная	7,5	17,0	31,5
МК/14	веретеновидная	6,2	24,0	50,5
МК/2	булавовидная	9,1	16,0	45,0
СМБ/5	веретеновидная	9,0	20,0	40,3
СМБ/8	веретеновидная	10,9	20,0	37,3
СМК/16	призматическая	9,6	21,0	44,3
АА/5	призматическая	8,9	21,0	40,8
АА/29	призматическая	9,8	18,6	44,1
КАБ/3	булавовидная	8,5	17,3	40,5
GS/3	веретеновидная	14,8	21,0	43,2
GS/17	веретеновидная	9,1	19,0	36,7
SM/2	призматическая	9,3	19,0	34,8
SU/1	веретеновидная	8,5	18,0	39,8
Аврора	призматическая	8,0	22,0	35,2
Красн. 99	призматическая	9,6	22,0	43,0
$НСР_{05}$		0,4	1,6	3,6

По форме колоса линии разделяются на булавовидные, веретеновидные и призматические, при этом встречаются как остистые и безостые, так и полуостистые формы. Колосья линий различаются по форме, цвету, длине, ширине и степени плотности. На рисунках 10 и 11 представлены колосья линий, полученных с использованием синтетических форм *T. miguschovae* и Авродес.

Рисунок 10. Колосья линий пшеницы, полученные с участием формы *T. miguschovae*

Рисунок 11. Колосья линий пшеницы, полученные с участием формы Авродес

По цвету колоса полиморфизм наблюдается в основном у линий, полученных на основе *T. miguschovae*. Отобраны линии с темными, коричневыми и светлыми колосьями. К положительным качествам следует отнести неосыпаемость зерна после его созревания у линий МБ/1, МБ/5, МК/2, МК/9, МК/14, СМБ/5, СМБ/8, СМК/16, GS/3 и GS/17, полученных с участием синтетической формы *T. miguschovae*.

По признаку «высота растений» было изучено 38 интрогрессивных линий. Оценка по высоте в селекционном материале проводилась в течении трёх лет с 2017 по 2019 гг., её результаты представлены в таблице 15 и таблице 4 Приложения. Высота растений варьировала от 62 см у линии СМК/25 до 110 см у МБ/31 (рис.12).

Рисунок 12. Высота растений интрогрессивных линий мягкой пшеницы: а) МБ/31, б) СМБ/29, в) СМК/25.

Таблица 15. Характеристика интрогрессивных линий мягкой пшеницы по признаку «высота растений», среднее за (2017-2019 гг.), см

Линия	Высота растений, см	Линия	Высота растений, см
МБ/1	85,1	АА35	96,3
МБ/26	87,7	АБ18	70,4
МБ/30	81,9	АК19	72,4
МБ/31	110,3	АК28	92,9
МК/14	86,2	АК31	84,6
МК/30	89,8	АК32	100,1
МК/39	104,5	АК34	72,4
СМБ/12	71,4	КАБ9	95,2
СМБ/29	90,0	КАБ11	84,1
СМБ/46	102,8	GS1	100,5
СМБ/49	75,9	GS19	74,1
СМК/4	67,0	GS24	70,8
СМК/8	85,7	GS32	67,3
СМК/12	83,5	GS33	75,8
СМК/25	61,7	SM2	83,7
СМК/26	64,5	SU4	106,6
СМК/36	94,4	SU14	90,6
АА/2	85,7	Аврора, ст.	114,5
АА/6	92,4	Безостая1, ст	99,6
АА/19	88,5	Краснодарская 99, ст.	88,7
АА/21	91,8		
$НСР_{05}$	2,8		2,8

Линии были представлены двумя группами: низкорослые СМК/4, СМК/25, СМК/26, GS/19, GS/24, GS/32, GS/33, СМБ/12, СМБ/49, АК/19, АК/34, АБ/18 и среднерослые АА/2, АА/6, АА/19, АА/21, АА/35, МБ/1, МБ/26, МБ/30, МБ/31, GS/1, SM/2, СМК/8, МК/14, МК/30, МК/39, СМБ/29, АК/28, АК/31, АК/32, СМК/12, СМБ/46, СМК/36, КАБ/9, КАБ/11, SU/4, SU/14. Средние значения высоты растений за три года представлены в таблице 15. Высота растений линий МБ/26, МБ/30, СМК/25, GS/19, GS/24, GS/32, СМБ/12, SM/2, СМК/4, СМК/26, СМБ/49, GS/33, АБ/18, АК/19 и АК/34 достоверно ниже стандарта Краснодарская 99. Линии МБ/1, МК/14, МК/39, МК/30, СМБ/29, СМК/8, СМК/36, СМК/12, КАБ/9, КАБ/11, АА/19, АА/35, АК/28, АК/31, АК/32 также достоверно имеют меньшую высоту по сравнению со среднерослым сортом Безостая 1.

Таким образом, наряду с устойчивостью к группе болезней к положительным характеристикам изучаемых линий можно отнести и меньшие в сравнении с реккуррентными сортами мягкой пшеницы значения высоты растений. Оценка на устойчивость к полеганию у линий не проводилась, однако было отмечено, что они различаются между собой и по этому признаку.

Следует отметить, что на проявление признака «высота растений» значительное влияние оказывают сложившиеся в зоне возделывания климатические и агротехнические условия. Как известно, проявление фенотипа зависит от генотипа и воздействия факторов среды. Однако не все фенотипические признаки могут моделироваться только на основе идентификации генотипического варианта и уровня воздействия среды без учёта взаимодействия генов со средой. Для изучения генотипической межлинейной изменчивости признака «высота растений» проведён двухфакторный перекрестный дисперсионный анализ, позволяющий оценить, как эффекты самих факторов, так и их взаимодействие. (табл. 16).

По результатам дисперсионного анализа для признака «высота растений» установлены генотипические различия, доля которых была значительна и составила 98%. Различия между годами выращивания растений не установлены. Также не выявлен эффект взаимодействия и между факторами.

Таблица 16. Результаты дисперсионного анализа признака «высота растений» у интрогрессивных линий и пшеницы, (2017-2019 гг.)

Изменчивость	SS	df	mS	F	$F_{0,05}$	p^{in}, %
«Высота растений»						
Между годами	41805,0	26,0	1607,8	293,0	1,5	0,13%
Генотипическая	67,5	2,0	33,7	6,2	3,1	98,0%
Взаимодействие	267,6	52,0	5,2	0,9	1,4	0,0%
Остаточная	877,9	160,0	5,5			2,0%

Таким образом, основным фактором влияния на признак «высота растений» в нашем случае являлся генотип, что предполагает возможность дальнейшей селекции в рамках индивидуального отбора.

Полученные линии имели различия и по продолжительности вегетационного периода, значения этого признака варировали от 268 до 282 суток в линиях МБ/26 и МК/9, соответственно (табл. 17). Достаточно продолжительным периодом вегетации отличались линии, полученные с участием сорта Кавказ. В целом, линии по этому признаку приближаются к рекуррентным сортам, на основе которых они получены. Из 20 отобранных линий у 10 – МБ/5, МБ/3, МБ/26, СМБ/4, СМБ/5, СМБ/16, АА/5, АА/29, GS/3 и GS/17 вегетационный период находится на уровне рекуррентных сортов.

По дате начала колошения наиболее ранний срок отмечен у линии МБ/26 (4 мая), тогда как у линии МК/9 начало колошения наблюдали 17 мая. Продолжительность вегетационного периода является ключевым фактором адаптивности пшеницы и имеет важное значение в формировании урожая. Для повышения стабильности урожая по годам рекомендуется возделывание сортов различных групп спелости: ультроскороспелых, скороспелых, среднеранних (период вегетации 265–269 дней), среднеспелых (270-274 дней) и среднепоздних (275-280дней) типа.

Таблица 17. Продолжительность вегетационного периода и дата колошения линий, (2019г.)

Линия	Дата колошения, май	Вегетационный период, суток
МБ/5	14	271
МБ/3	15	273
МБ/26	04	268
МК/2	10	274
МК/9	18	282
МК/14	16	280
СМБ/4	06	271
СМБ/5	06	272
СМБ/8	11	276
СМБ/13	14	279
СМБ/16	12	272
АА.5	09	272
АА/25	14	280
АА/28	10	273
АА/29	09	272
GS/3	08	270
GS/17	06	270
КАБ/8	11	274
SM/2	15	275
SU/1	15	277
Аврора	14	273
Безостая	10	272
Кавказ	15	276
Стандарт Краснодарская 99	08	270

Таким образом, изучаемые линии представлены различными группами спелости: среднеранние – МБ/26, СМБ/4, СМБ/5, АА/5, АА/29, GS/3 и GS/17; среднеспелые – МК/2, СМБ/8, СМБ/13, СМБ/16, КАБ/8, АА/28; среднепоздние – МБ/5, МБ/3, МК/9, МК/14, АА/25, SM/2, SU/1 и могут представлять интерес для селекции по данному признаку.

Особую ценность для селекции сортов с укороченным периодом вегетации представляет линия МБ/26. По сравнению с рекуррентным сортом Безостая1 у неё дата колошения наступает на 6 дней раньше (4 мая), а вегетационный период на 4 дня короче и составляет 268 дней.

3.1.3.1. 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 & Waninge, 1986; Knott, 1989; Барышева, 1990).

Производство пшеницы можно увеличить за счёт создания высокоурожайных сортов, адаптированных к окружающим условиям среды, а селекция на урожайность зерна может быть эффективной, если в растительном материале присутствует достаточная генетическая изменчивость. Урожайность является сложным, комплексным признаком, обусловленным генотипом, влиянием окружающей среды и взаимодействием этих факторов. При этом, на урожайность существенное влияние оказывают такие признаки как, количество продуктивных колосьев, количество колосков в колосе, масса тысячи зёрен.

Для изучения элементов продуктивности было отобрано 38 наиболее интересных по фенотипу линий из различных комбинаций скрещивания. Оценивались следующие показатели: масса 1000 зерен, масса зерна с одной делянки и количество продуктивных колосьев с одной делянки (таблица 5 приложения). Характеристики некоторых из них представлены в таблице 18.

Таблица 18. Компоненты урожайности линий озимой мягкой пшеницы, (2019 г.)

Название линии	Масса 1000 зерен, г.	Количество продуктивных колосьев, шт/1 м^2	Масса зерна г., 1 м^2,
МБ/1	43,4	479	488,7
МБ/26	44,8	398	440,4
МБ/30	33,5	414	378,4
МБ/31	46,4	388	376,2
СМБ/10	38,7	396	470,3
СМБ/12	47,7	370	440,0
СМК/25	39,8	374	361,5
СМК/30	44,3	430	431,6
СМК/36	41,5	481	490,7
АА/5	45,4	418	429,5
АА/6	45,7	330	400,5
АА/35	39,6	395	428,0
АА/36	42,7	425	417,3
АБ/11	45,8	518	383,0
АК/34	44,8	383	367,1
GS/1	47,8	340	472,0
GS/6	44,3	452	476,3
GS/20	45,0	418	403,0
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
SU/19	46,3	394	344,7
SU/20	45,6	408	354,9
Краснодарская 99	42,3	435	437,5
$НСР_{05}$	1,5	49,0	48,6

Масса 1000 зерен характеризует крупность, плотность и выполненость зерна. По данным А.А. Созинова, Г.П. Жемела (1983), данный признак в значительной степени обусловлен наследственной природой сорта. Масса 1000 зерен варьировала от 33,5 г у линии МК/3 до 47,8 г у линии GS/1, при среднем значении у сортов Безостая1, Аврора, Скифянка и Краснодарская 99 – 43,4; 43,7; 44,0 и 42,3 грамма соответственно. У линий МБ/26, МБ/31, СМБ/2, СМК/30, АА/5, АА/6, АБ/11, АК/34, GS/1, GS/6, GS/20, GS/24, GS/33, SU/15, SU/16, SU/19 и SU/20 масса 1000 зерен достоверно выше, чем у сорта Краснодарская 99. У 17 линий получены значения данного признака на уровне Краснодарская 99. Исключение составили линии МК/30, СМБ/10, СМБ/12, СМК/25 и АА/35, у которых масса 1000 зерен была достоверно ниже стандарта. Масса зерна с одной делянки (1 м^2) у линий МБ/1, СМК/36, и SU/15 достоверно превышали стандартный сорт Краснодарская 99. В случае линий МБ/1 и СМК/36 это связано с тем, что они сформировали больше продуктивных колосьев 479 и 481 шт., соответственно, относительно Краснодарская 99 (435 шт.), а у линии SU/15 за счет более крупного зерна (масса 1000 зёрен. –45,2 г). Остальные линии незначительно превышали или имели более низкие значения массы зерна с одной делянки.

По показателю признака «количества продуктивных колосьев с 1 м^2» все линии за исключением СМБ/10, СМБ/12, СМБ/29, СМК/4, СМК/25, АА/2, АА/6 АК/34, SM/2 и GS/1, находились на уровне значений, полученных для сорта Краснодарская 99, а в случае линии АБ/11 (518 продуктивных колосьев с 1м^2) превышали таковые.

Таким образом, в результате проделанной работы были отобраны 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, превышающие по отдельным элементам продуктивности стандартный сорт Краснодарская 99. Следует отметить, что все отобранные линии устойчивы к листовой ржавчине. К тому же за исключением линий SU/15 и SU/16, все они несут устойчивость одновременно к нескольким болезням. Эти линии имеют большой потенциал и отобраны для дальнейшего изучения и вовлечения их в селекционный процесс.

3.1.3.2. Оценка интрогрессивных линий по содержанию белка и клейковины

Белок и клейковина являются основными элементами, определяющими питательную ценность пшеницы. Содержание белка в зерне является важной характеристикой как для пищевой ценности, так и конечного качества пшеницы (Veraverbeke and Delcour, 2002). Уровень содержания белка и микроэлементов в современных сортах пшеницы достаточно низкий и ограничивается их генетическим разнообразием. Поэтому селекция пшеницы на высокое содержание белка в зерне (GPC- High grain protein content) является актуальным её направлением. Одним из эффективных подходов при создании сортов пшеницы с высоким содержанием белка, является перенос чужеродных генов из генетического пула дикорастущих видов.

Массовая доля белка и качество клейковины, являются преимущественно генетически обусловленными признаками, а массовая доля сырой клейковины определяется главным образом условиями выращивания (Johnson, 1973; Vlasenko, 2010). Кроме того, на содержание белка и клейковины существенно влияют и другие факторы, действующие как в период вегетации, так и в послеуборочный период. Качество зерна существенно ухудшается при поражении растений болезнями, вредителями и при неблагоприятных погодных условиях.

Тридцать восемь интрогресивных линий мягкой пшеницы, полученных с участием синтетических форм *T. miguschovae*, Авродес RS1 и RS7 изучались в течение трех лет с 2017 по 2019 г. по содержанию белка и клейковины (табл. 6 и 7 приложения). Показатели содержания белка у изучаемых линий, в зависимости от условий вегетации, варьировали от 13,0% у линии GS/1 до 17,8% у линии АА/6. Показатели сырой клейковины варьировали от 25,1% до 41,3% в линиях МБ/30 и АБ/11 соответственно. У большинства линий, за исключением SM/2, АА/21, АК/5 и GS/1, содержание белка превышало 14%. Средние показатели содержания белка у линий МБ/26, СМБ/12, СМБ/29, СМК/36, АА/2, АА/5, АА/6, АА/35, АА/36, АБ/11, АК/19, АК/34, GS/6, GS/24, SU/11, SU/14, SU/15, SU/16 и SU/19 по каждому году испытаний достоверно выше, чем у сорта Безостая1 (табл. 19). Одинадцать линий МБ/1, МБ/30, МБ/32, СМБ/10, СМБ/46, СМК/4, СМК/25, СМК/26, GS/10,

GS/19 и GS/20 по показателям данного признака находятся на уровне стандарта. Содержание белка у реципиентных сортов Безостая 1, Аврора, Кавказ и Краснодарская 99 составило 15,1%, 15%, 14,9% и 13,8% соответственно.

Таблица 19. Содержание белка у интрогрессивных линий мягкой пшеницы, %

Линия	2017 г.	2018 г.	2019 г.
МБ/26	15,9	15,6	16,0
СМБ/12	16,3	16,5	16,1
СМБ/29	15,7	16,3	15,9
СМК/36	16,3	15,9	16,7
АА/2	16,7	15,5	16,0
АА/5	17,6	16,8	17,5
АА/6	17,8	15,6	16,3
АА/35	16,1	15,9	15,9
АА/36	16,6	16,6	16,6
АБ/11	17,7	16,5	17,5
АК/19	16,2	15,7	16,1
АК/34	16,3	16,3	16,9
GS/6	17,0	17,0	17,0
GS/24	15,8	16,1	16,3
SU/11	16,2	15,5	16,1
SU/14	16,1	16,2	16,7
SU/15	17,4	17,3	17,8
SU/16	17,7	17,6	17,3
SU/19	17,4	16,4	17,2
Безостая 1, ст.	15,1	14,6	15,0
$НСР_{05}$	0,5	0,8	0,7

Большинство изученных линий по средним значениям содержания клейковины находились на одном уровне с сортом Безостая. Отобрано 11 линий СМБ/29, СМК/36, АА/5, АБ/11, АК/19, АК/34, GS/6, GS/24, SU/15, SU/16, SU/19 у которых средние показатели содержания клейковины в течении трех лет изучения, достоверно превышали таковые у сорта Безостая1 (табл. 20).

Таблица 20. Содержание клейковины у интрогрессивных линий мягкой пшеницы, %

Линия	2017 г.	2018 г.	2019 г.
СМБ/29	37,1	39,5	39,4
СМК/36	38,0	39,8	36,1
АА/5	36,2	39,2	37,8
АБ/11	40,4	41,2	41,3
АК/19	37,3	40,7	39,4
АК/34	37,0	39,3	35,3
GS/6	33,9	34,9	36,1
GS/24	31,9	36,0	36,0
SU/15	34,3	36,4	36,8
SU/16	35,3	38,0	35,8
SU/19	37,7	38,9	36,4
Безостая 1, ст.	29,9	34,0	29,7
$НСР_{05}$	2,8	1,8	2,4

Требования ГОСТ Р52554-2006 «Пшеница. Технические условия» предусматривают уровень клейковины для первого класса не менее 32%, для второго класса – не менее 28%, а для третьего не менее 23%. Из 38 линий в 2017 г. выявлено 14 линий с содержанием клейковины не ниже 32% (I класс), 14 линий с клейковиной не ниже 28% (II) и 10 со значениями не ниже 23% (III –класс) (рис.13). В 2018 г. количество линий с содержанием клейковины не менее 32% увеличилось

до 24, а в 2019 г. выявлена 21 линия этого класса. По 12 линий с клейковиной второго класса выявлено в 2018, 2019 гг. Всего 2 линии в 2018 г. имели клейковину ниже 28%, в 2019 г. количество таких линий увеличилось до 5. Таким образом, полученные результаты подтверждают выводы о том, что на содержание сырой клейковины существенно влияние оказывают условия вегетации определенного года.

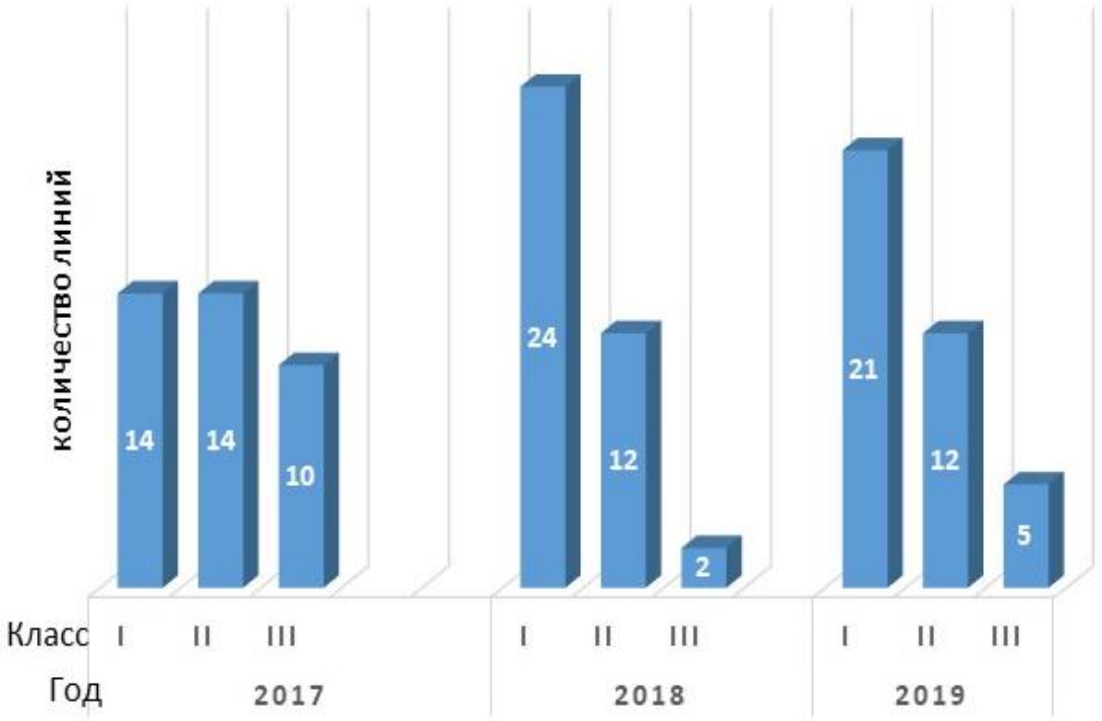


Рисунок 13. Средние значения массовой доли сырой клейковины в зерне интрогрессивных линий мягкой пшеницы, (%), (2017-2019 гг.)

По результатам дисперсионного анализа для признаков «содержание белка» и «содержание клейковины» установлены генотипические различия. Доля этих различий составляла 90% для признака «содержание белка» и 80% для признака «содержание клейковины» (табл. 21). При этом различия между показателями разных лет выращивания в первом случае было незначительным и составило 1%, в

то время как для признака «содержание клейковины» этот показатель составил 8%. Эффект взаимодействия между факторами составил 5% и 4% соответственно.

Большинство исследователей склоняются к мнению, что содержание и качество клейковины представляют собой генотипически обусловленные признаки, на проявление которых сильное воздействие оказывают температура и влажность, особенно в период налива зерна, а также обеспеченность растений азотом (Павлов, 1992; Бебякин и др., 1996).

Таблица 21. Результаты двухфакторного перекрестного анализа для признаков «содержание белка» и «содержание клейковины» в образцах пшеницы, (2017-2019 гг.)

Изменчивость	SS	df	mS	F	$F_{Q,05}$	p^{in}, %
«Содержание белка»						
Г енотипическая	1138,4	42,0	27,1	121,2	1,4	90%
Между годами	15,9	2,0	8,0	35,6	3,0	1%
Взаимодействие	75,5	84,0	0,9	4,0	1,3	5%
Остаточная	57,3	256,0	0,2			4%
«Содержание клейковины»						
Г енотипическая	8594,9	42,0	204,6	59,5	3,0	80%
Между годами	819,4	2,0	409,7	119,2	1,4	8%
Взаимодействие	732,0	84,0	8,7	2,5	1,3	4%
Остаточная	880,1	256,0	3,4			8%

Таким образом, как и в случае с признаком «высота растений» основным фактором влияния на признаки «содержание белка» и «содержание клейковины» являлся генотип, однако во втором случае влияние условий вегетации более заметно. 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). Большинство исследователей полагают, что в следствии интенсивной селекции мягкая пшеница утратила генетическое разнообразие по этому признаку (Mettin et al., 1973; Жиров, 1989). В следствии этого, поиск новых доноров и отбор генотипов, обладающих хорошими показателями как по содержанию белка, так и урожайности, является важной задачей для селекционеров.

В результате анализа интрогрессивных линий выявлено, что линии МБ/26, СМК/36, АА/5, АА/6, АА/35, АА/36, GS/6, GS/24, SU/15 и SU/16 имеют лучшие, относительно сорта Краснодарская 99, значения по отдельным компонентам урожайности и при этом обладают высоким содержанием белка и клейковины. Эти линии отобраны для дальнейшего изучения в конкурсном сортоиспытании. Вместе с тем, такие линии, как СМБ/12, СМБ/29, АБ/11, АК/19, АК/34, и SU/19 с высоким содержанием белка и клейковины представляют интерес для селекции по этим признакам.

3.1.3.3. Оценка интрогрессивных линий по технологическим свойствам и хлебопекарным качествам

Несомненно, что перечисленные выше признаки имеют большое значение, однако основными лимитирующими факторами для использования интрогрессивных линий в селекции являются их технологические свойства, которые определяют хлебопекарные качества. Более того, за последние несколько десятилетий качество продуктов конечного потребления приобретает все большее значение для селекционеров пшеницы, и в настоящее время повышение качества зерна становится приоритетным направлением в растениеводстве (Kong et al. 2013). На качество пшеницы влияют генетические факторы, место произрастания, агротехнические мероприятия, условия уборки, транспортировки и послеуборочного хранения зерна и др. (Dziki et al., 2017). Генотип является важнейшим фактором, влияющим на показатели качества (Hristov et al., 2010). Поэтому идентификация ценных генотипов может быть эффективным способом улучшения качества хлеба. Таким образом, скрининг ценной зародышевой плазмы должен быть одной из основных задач селекционеров для улучшения параметров

качества зерна пшеницы (Zhang et al. 2004). Исходя из вышесказанного, применение интрогресивных линий имеет потенциал к увеличению возможностей селекции для улучшения технологических свойств и хлебопекарных качеств зерна.

В связи с этим, начиная с 2017 года, проводилась оценка линий по технологическим свойствам зерна. В анализ были включены следующие линии: МБ/26, СМК/36, АА/5, АА/6, АА/35, АА/36, GS/6, GS/24, SU/15 и SU/16, обладающие устойчивостью к болезням, продуктивностью с высоким содержанием белка и клейковины; МБ/26, СМБ/12, СМБ/29, АБ/11, АК/19, АК/34, SU/14, устойчивые к болезням, с содержанием белка, выше чем у реципиентных сортов; SU/19 не устойчивая к болезням, но имеющая высокое содержание белка и клейковины.

Высокое содержанием белка и клейковины, как правило имеет отрицательную корреляцию с хорошими хлебопекарными показателями, а в случае интрогрессивных линий пшеницы, имеющих высокий уровень содержания белка и клейковины, довольно часто сопровождается его ухудшением (Maes, 1966; Springer, 1964). Технологические свойства зерна пшеницы главным образом определяются качеством белка и клейковины, обусловленного структурой белковых макромолекул, плотности упаковки полипептидных цепей в глобуле, количества и прочности внутри- и межмолекулярных связей, а также агрегатного состояния макромолекул (Вакар, 1961, 1975).

Характеристика отобранных линий по технологическим свойствам и хлебопекарным качествам зерна за 2019 г. приведена в таблице 22. Содержание белка в абсолютно сухом веществе варьировало от 15,8% у АА/35 до 17,8% у SU/15, при 15% у сорта Безостая 1. По содержанию клейковины все линии превышали стандарт. Однако по качеству клейковины большинство линий уступают стандартному сорту Безостая 1. Показатель ИДК-1 у линий варьирует от 70 у СМБ/29 до 105 у GS/6 и SU/15. К линиям, соответствующим первой группе клейковины по ГОСТ, относятся МБ/26, СМБ/29, СМК/36, АА/5, АА/36, SU/16 и SU/19. Второй группе по качеству клейковины соответствуют линии СМБ/12, АА/6, АА/35, АБ/11, АК/19, АК/34, GS/24, SU/14.

Таблица 22. Характеристика линий по некоторым технологическим свойствам и хлебопекарным качествам зерна, (2019 г.)

Линия	Содержание Протеина в абс. сух. веществе, %	Содержание сырой клейковины, %	Качество клейковины		Объёмный выход хлеба, мл.	Общая хлебопекарная оценка, (балл)
			ИДК-1	Группа по 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
АБ/11	17,5	41,3	85	II	605	4,5
АК/19	16,1	39,4	95	II	545	4,1
АК/34	16,9	35,3	95	II	585	4,2
GS/6	17,0	36,1	105	III	555	3,9
GS/24	16,3	36,0	85	II	620	4,5
SU/14	16,7	32,0	80	II	610	4,3
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

Для линий GS/6 и SU/15 показатель ИДК-1 соответствовал третей группе. Таким образом, отобрано 7 линий с первой группой клейковины, которые, при этом, имели высокие показатели содержания и белка, и клейковины.

Вариабельность по объему хлеба составила от 535 мл для линии СМБ/12 до 680 мл для линии SU/16 (рис.14).

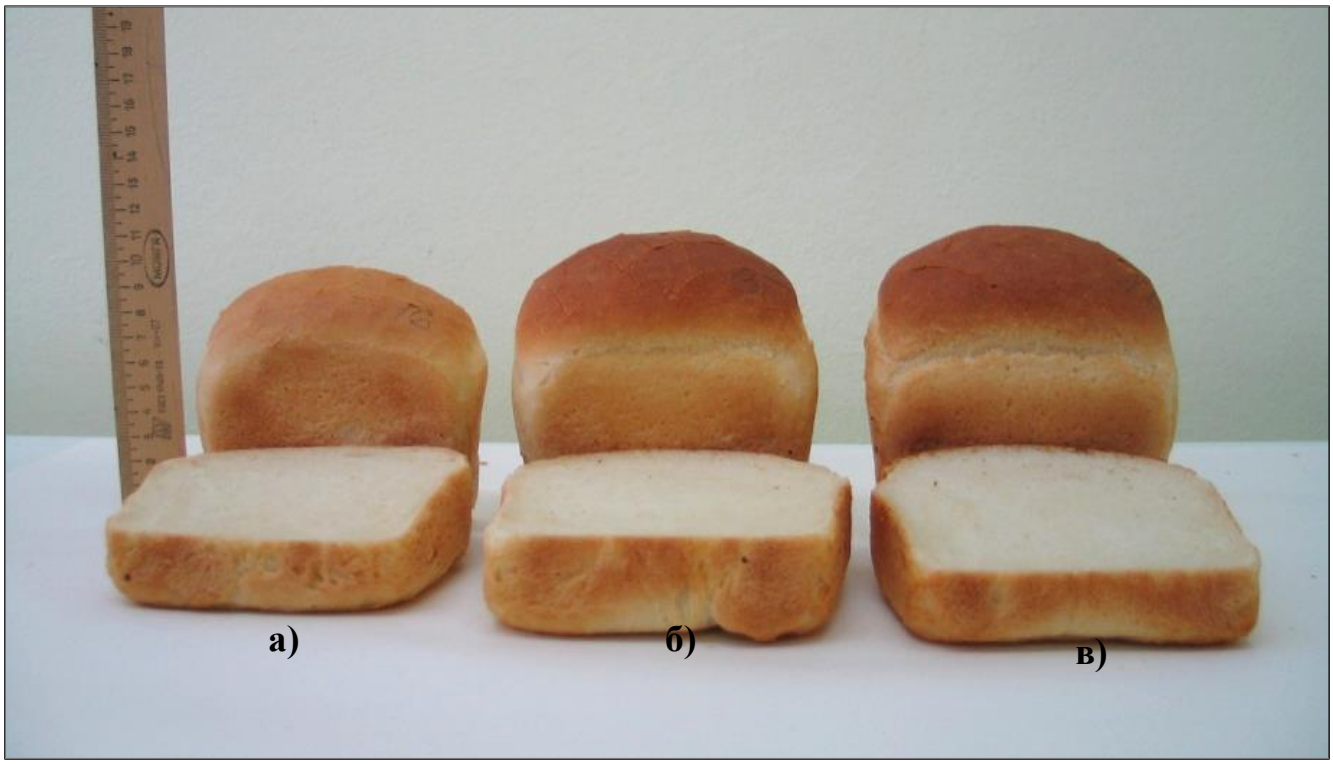


Рисунок 14. Форма и объёмный выход хлеба: а) линия СМБ/12; б) линия SU/19; в) линия SU/16.

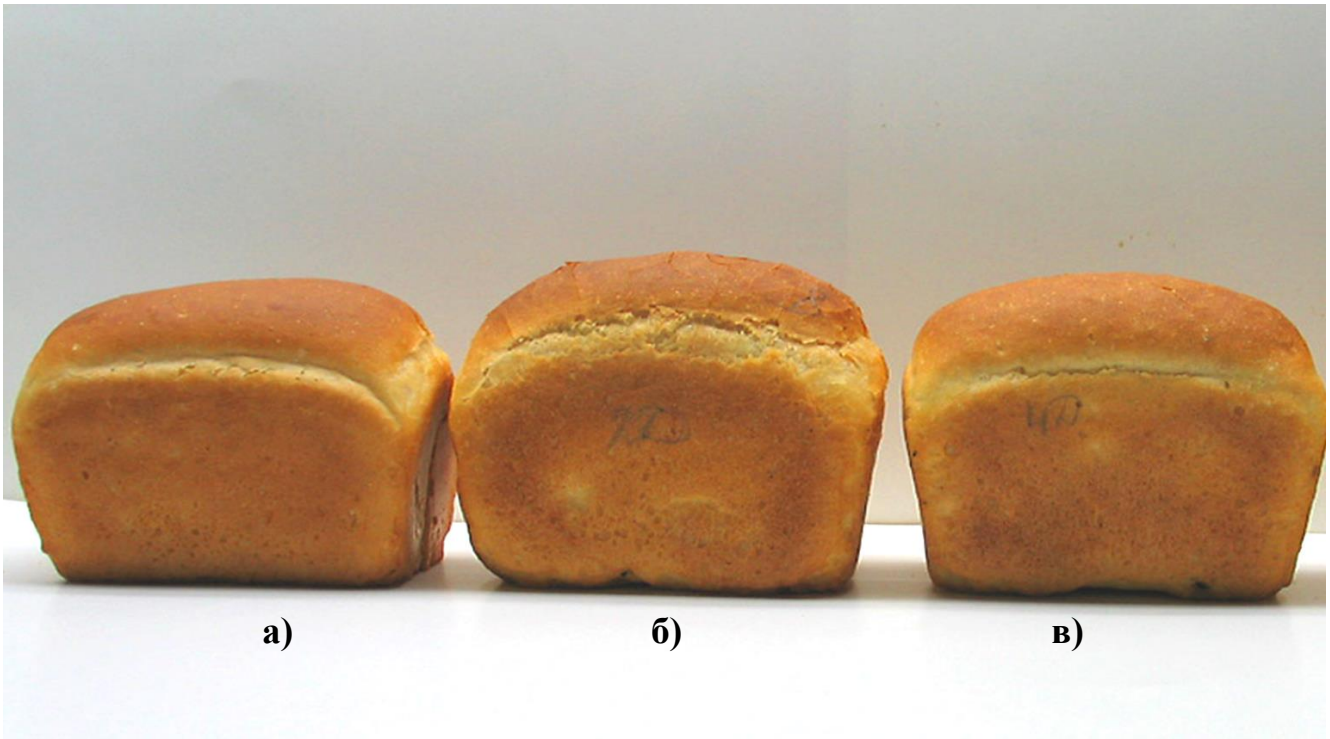


Рисунок 15. Форма и объёмный выход хлеба: а) сорт Безостая 1; б) линия СМБ/29; в) линия МБ/26.

Семь изученных линий СМБ/29, СМК/36, АА/35, GS/24, SU/14, SU/16 и SU/19 превышают по этому показателю реципиентный сорт Безостая 1 у которого объёмный выход хлеба составил 605 мл. Как и следовало ожидать, исследуемые линии различались между собой и по общей хлебопекарной оценке. У линий СМБ/12, АК/19, АК/34, GS/6 и SU/14 хлебопекарная оценка была ниже чем у Безостая 1 (4,5 балла), а линии АА/5, АА/35, АА/36, АБ/11 и GS/24 находились с ним на одном уровне. Семь линий (МБ/26, СМБ/29, СМК/36, АА/5 АА/6, SU/16 и SU/19) имели более высокую, чем у сорта Безостая 1, хлебопекарную оценку, при этом две из них (МБ/26 и СМБ/29) получили оценку 4,7 балла (рис. 15).

Высокая хлебопекарная оценка этих линий, вероятно, связана с тем, что они получены с участием сорта Безостая 1. Большой интерес для селекции представляют линии АА/6, SU/16 и SU/19, у которых высокое содержание белка и клейковины сочетается с хорошей хлебопекарной оценкой 4,6 балла.

Заключение к главе 3.1.

Таким образом, как и предполагалось, в результате хозяйственно-биологической оценки интрогрессивных линий выявлен полиморфизм по всем изученным признакам, что подтверждает у них высокий уровень генетического разнообразия.

Для многих линий характерно проявление групповой устойчивости к основным болезням пшеницы. Из 343 изученных линий - 77 были устойчивы к четырём болезням, 120 линий - к трём болезням, 82 - к двум болезням. Исходя из полученных результатов можно предположить, что устойчивость к болезням от синтетических форм передается блоком сцепленных генов. По результатам изучения интрогрессивных линий на устойчивость к листовой ржавчине выявлено, что подавляющее большинство из них (89%) устойчиво к данной болезни. Устойчивость в линиях обусловлена присутствием в них генетического материала дикорастущих видов, переданного посредством использования синтетических форм. Гибридологическим методом у исследуемых линий выявлены различия по

генам устойчивости к листовой ржавчине, установлено, что за исключением линии МБ/6 они отличаются от ранее переданных известных эффективных генов *Lr39*, *Lr50*, *Lr35* и *Lr36*. Предположительно линия МБ/6 содержит эффективный в условиях Краснодарского края ген *Lr50*. Отобраны линии СМБ/10, АА/35 и АА/36, не уступающие по компонентам продуктивности стандартному сорту Краснодарская 99, а также линии МБ/1, СМК/36, и SU/15 которые имели лучшие показатели для признаков «масса 1000 зёрен» и «масса зерна г., 1 м^2».

По показателям содержания белка и клейковины большинство линий превышают, либо находятся на уровне сортов-реципиентов. Линии МБ/26, СМК/36, АА/5, АА/6, АА/35, АА/36, GS/6, GS/24, SU/15 и SU/16 имеют более высокие значения компонентов урожайности по сравнению со стандартным сортом Краснодарская 99 и при этом имеют лучшие показатели по содержанию белка и клейковины. Эти линии отобраны для дальнейшего изучения в конкурсном сортоиспытании. Линии СМБ/12, СМБ/29, АБ/11, АК/19, АК/34 и SU/19 с высокими значениями показателей белка и клейковины являются ценным материалом для селекции мягкой пшеницы по этим признакам. Выявлены линии АА/6, SU/16 и SU/19 с высоким содержанием белка и клейковины и хорошей хлебопекарной оценкой. Отобраны линии МБ/26, СМБ/29, АА/6, СМК/36, SU/16 и SU/19 с хлебопекарной оценкой, превышающей таковую у сорта Безостая 1, при этом две из них (МБ/26 и СМБ/29) получили оценку 4,7 балла. К тому же линия СМБ/29 высокоустойчива к листовой ржавчине, а линия МБ/26 несёт устойчивость одновременно к трём болезням (листовая ржавчина, мучнистая роса и септориоз) и имеет ранние сроки созревания. Линия SU/19 показала восприимчивость ко всем 4 изучаемым болезням, однако высокие показатели содержания белка и клейковины, а также высокая хлебопекарная оценка делают её перспективной для селекции мягкой пшеницы на качество. Особый интерес представляет линия GS/24, которая наряду с высокими показателями продуктивности, содержания белка и клейковины, устойчива к листовой и желтой ржавчинам, мучнистой росе и септориозу, и при этом имеет хорошую хлебопекарную оценку на уровне сорта Безостая 1 (4,5 балла).

3.2. Цитологические, цитогенетические и молекулярно-цитогенетические методы изучения интрогрессивных линий

Получение интрогрессивных линий, как правило, сопровождается целым комплексом структурных и функциональных перестроек, которые могут нести как положительные, так и отрицательные эффекты. Несмотря на свою полезность для привнесения новых благоприятных аллелей или генов, интрогрессии могут иметь и негативные эффекты из-за нежелательных генов, введенных вместе с полезным геном (Worland et al., 1988; Knott, 1989; Brevis, 2008). Как правило, это связано с осложнением рекомбинационного процесса между гомеологичными хромосомами, а также, тем, что чужеродные хромосомы могут в недостаточной степени компенсировать отсутствующие пшеничные хромосомы (Zeven & Wanige, 1986). Количество нежелательных признаков, главным образом, зависит от формы передачи и характера их проявления. Кроме того, количество чужеродного хроматина, присутствующего в геноме пшеницы, часто неприемлемо для селекционной практики. В то же время передаваемый чужеродный генетический материал может не иметь негативного эффекта и даже быть сцепленным с другими положительными признаками (Zeller & Fuchs, 1983; Тимонова и др., 2012).

Таким образом, 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, так как помимо необходимых в селекции генов, он может нести «генетический мусор», количество которого необходимо уменьшать. Для решения этой задачи применяется метод дифференциальной С-окраски с использованием красителя Гимзы, который позволяет идентифицировать как гомеологичную группу, так и геномную принадлежность. Молекулярно-цитогенетические методы анализа, позволяют выявлять чужеродный хроматин и изучать особенности его сохранения и наследования в ряде поколений. Широкое применение нашли такие методы как геномная *in situ* гибридизация (GISH), флюоресцентная *in situ* гибридизация (FISH) и др. (Raina, Rani, 2001; Markova, Vyskot, 2009).

3. 2.1. Цитологическая стабильность интрогрессивных линий

Одной из основных причин, которая может значительно повлиять на ограничение практического применения интрогрессивных линий, является их цитологическая нестабильность. Эта проблема связана с нарушением мейотического цикла у гибридных растений и может привести к быстрой потере чужеродного генетического материала. Цитологическая стабильность подразумевает наличие в линиях числа хромосом (2n-42), характерного для мягкой пшеницы, а также бивалентную конъюгацию хромосом. В связи с этим нами был проведен анализ поведения хромосом в мейозе у интрогрессивных линий пшеницы с целью оценки их цитологической стабильности.

Для анализа числа хромосом в метафазе I митоза было отобрано по 10 линий из каждой комбинации скрещивания. Установлено, что все линии являются 42-хромосомными. С учетом беккроссов и большого числа самоопыляющихся поколений такие результаты вполне ожидаемы. Кроме того, как правило, в первых поколениях для очередных беккроссов и самоопыления отбирались растения, которые содержали 42 хромосомы и характеризовались относительно стабильным мейозом. По этой же причине ожидалась высокая доля цитологически стабильных линий. На рисунке 16 показана стадия метафазы митоза 42-х хромосомного растения линии МБ/1, полученного с применением синтетической формы *T. miguschovae*.

Рисунок 16. Метафаза1 митоза в делящейся клетке растения линии МБ/1, полученного с участием формы *T. miguschovae*.

Цитологическую стабильность определяли с помощью анализа конъюгации хромосом в MI мейоза материнских клеток пыльцы (МКП) у 3 растений от каждой линии. Для анализа было отобрано 54 наиболее интересных по своим морфо-биологическим признакам линии: 17 полученных с участием *T. miguschovae*; 16 - на основе Авродес, 11 - на основе RS1 и 10 - на основе RS7. К цитологически стабильным относили линии, у которых количество клеток с бивалентной ассоциацией хромосом (21^{II}) превышало 90%. Количество хромосом, входящих в биваленты, рассчитывали, как отношение числа хромосом, образующих биваленты, к общему числу хромосом, выраженное в процентах. Число просмотренных клеток каждой линии варьировало от 155 у линии МБ/28 до 203 у GS/31 и GS/32 (табл. 8 приложения). В результате анализа выявлено, что за исключением линии МК/27 все остальные в MI мейоза формируют 21 бивалент и, таким образом, являются цитологически стабильными (рис. 17).

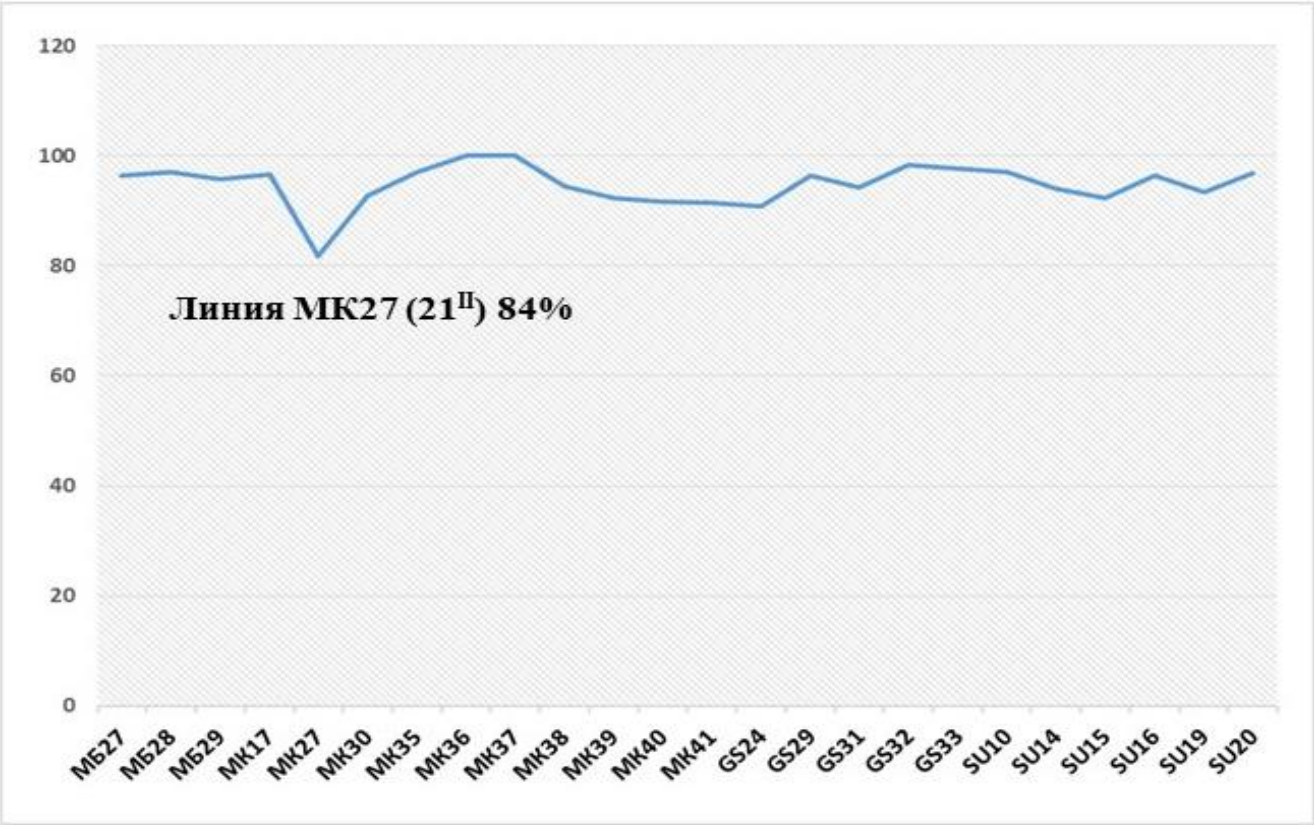


Рисунок 17. Процент изученных клеток пыльцы (МКП) с бивалентной конфигурацией хромосом (21^{II}) в интрогрессивных линиях мягкой пшеницы.

3.2.2. Определение формы передачи генетического материала *T. miguschovae, Ae. speltoides, Ae. umbellulata, Ae. taushii* в интрогрессивных линиях

Важной целью изучения интрогрессивных линий является определение формы передачи, то есть идентификация того, в каком виде в геноме мягкой пшеницы представлен генетический материал дикорастущего вида с желаемыми признаками. Это могут быть дополненные или замещенные хромосомы, транслокации и рекомбинации.

Следует отметить, что несмотря на ряд ценных качеств хромосомно-дополненные линии, не подходят для непосредственного использования в сельскохозяйственной практике. В следствии их цитологической нестабильности, которая может привести к утрате добавленной хромосомы. К тому же они, как правило, обладают низкой фертильностью и другими нежелательными признаками.

Замещённые линии более стабильны, однако только в том случае, если чужие хромосомы гомеологичны по отношению к замещённым. То есть, успех получения таких линий зависит от того, в какой мере чужеродная хромосома сможет компенсировать замещённую пшеничную хромосому. В целом замена хромосом пшеницы хромосомами другого вида или добавление чужеродных хромосом к генотипу пшеницы может привести к значительным хромосомным дисбалансам. Следует отметить, что чужеродные хромосомы могут также нести нежелательные в хозяйственном отношении признаки. Более перспективным является перенос небольшого участка чужеродной хромосомы посредством транслокации. Частичные реципрокные обмены между пшеничными и хромосомами других видов обеспечивают более стабильное состояние генома пшеницы. Транслокации могут быть получены за счет естественной рекомбинации хромосомных сегментов, путем удаления хромосомы 5B из генома пшеницы или подавления ее активности за счёт генома одного из видов эгилопса. С помощью этого метода можно получить рекомбинации участков хромосом пшеницы и гомеологичных им хромосом отдалённых видов при условии, что они способны коньюгировать между собой (Riley & Chapman, 1960; Wienhues, 1966; Sears, 1972; Dvorak, 1977; Kimber & Alonso

1981). Транслокации также можно получить с помощью мутагенных воздействий и получения межвидовых и межродовых гибридов через культуру клеток (Knott, 1961; Driscoll & Jensen, 1964; Sharma & Knott, 1966; Larkin, Scowcroff, 1981).

Чтобы установить, в какой форме был передан генетический материала от синтетических форм *T. miguschovae,* Авродес, RS1 и RS7, предварительно отобранные цитологически стабильные линии (21^{II}) скрещивали с сортом Краснодарская 99 и далее изучали мейоз у полученных гибридов F_1 (табл. 9, 10, 11, 12 приложения). Выбор сорта Краснодарская 99 обусловлен его высокой мейотической стабильностью. относительно сортов селекции НЦЗ им. П.П. Лукьяненко. Кроме того, этот сорт имеет высокую продуктивность и качество зерна. Таким образом, среди полученных гибридов можно отобрать потенциальные растения, представляющие интерес для практической селекции.

Предполагалось, что если у отобранных линий генетический материал синтетических форм представлен в виде целой хромосомы, то, как правило, ассоциация хромосом будет представлена в виде бивалентов и унивалентов $20^{II}+2^{I}$ (рис. 18а). А в случае транслокации в MI мейоза можно будет наблюдать биваленты и мультиваленты (рис. 18б).

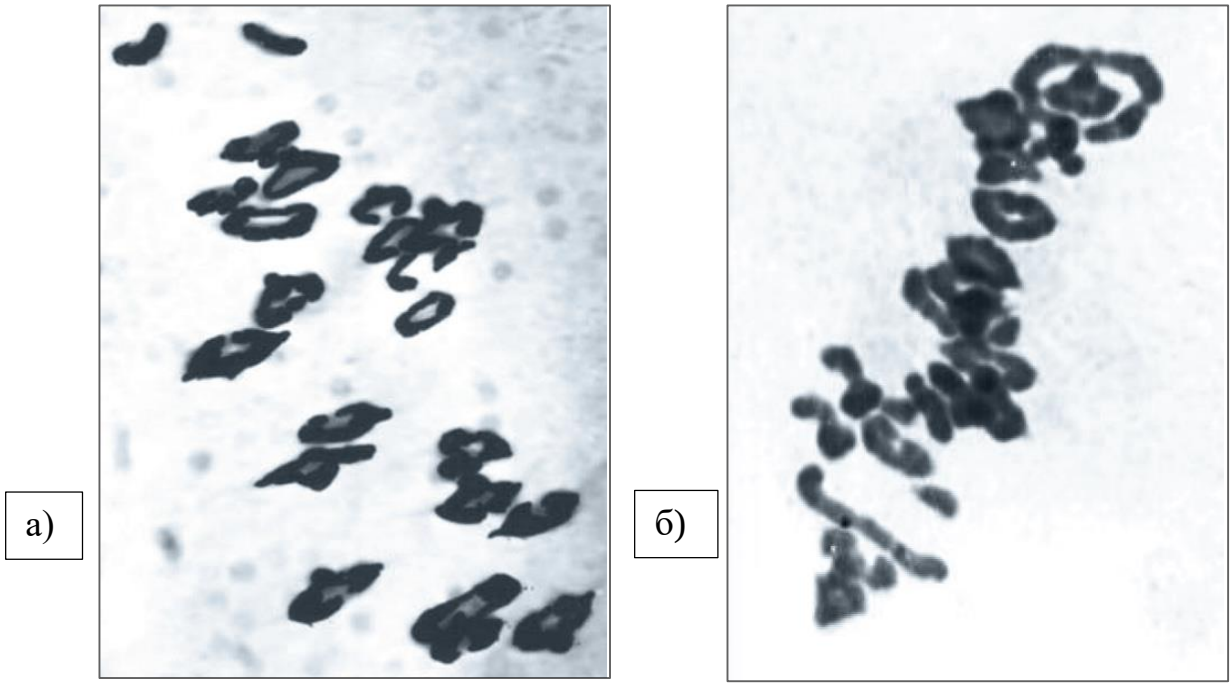


Рисунок 18. Ассоциация хромосом в метафазе I мейоза у гибридов F1: а) Краснодарская 99 × GS/19, (20^{II} + 2^{I}); б) Краснодарская 99 × МБ/30, (19^{II} +1^{IV}).

По итогам изучения мейоза в метафазе I МКП у гибридов F_1, полученных от скрещивания 16 стабильных линий *T. miguchovae / T. aestivum* с сортом Краснодарская 99, были получены следующие результаты (табл. 23).

Таблица 23. Анализ мейоза в MI МКП у гибридов F_1, полученных от скрещивания цитологически стабильных линий *T. miguchovae / T. aestivum* с сортом Краснодарская 99.

Комбинация скрещивания	Изучено клеток, шт.	21^{II}, (%)	$20^{II}+2^{I}$, (%)	Клетки с унивалентами, отличными от 2^{I} (%)	Клетки с мультивалентами, (%)
МБ/1×Кр.99	165	42,4	49,1	3,0	5,5
МБ/3×Кр.99	168	38,8	49,4	3,6	7,2
МБ/6×Кр.99	169	29,6	59,7	3,0	7,7
МБ/26×Кр.99	164	54,9	38,4	1,8	4,9
МБ/27×Кр.99	157	63,1	29,9	1,9	5,1
МБ/28×Кр.99	158	34,2	54,3	4,4	7,1
МБ/29×Кр.99	160	60,6	28,2	3,1	8,1
МБ/30×Кр.99	168	75,0	17,9	1,7	5,4
МК/17×Кр.99	164	48,8	41,5	1,8	7,9
МК/35×Кр.99	167	70,1	19,2	1,8	7,2
МК/36×Кр.99	159	55,4	37,5	1,9	5,2
МК/37×Кр.99	161	37,3	53,4	1,9	7,4
МК/38×Кр.99	164	71,9	17,2	3,1	7,8
МК/39×Кр.99	162	75,3	16,7	1,8	6,2
МК/40×Кр.99	164	75,0	12,5	3,1	9,4
МК/41×Кр.99	153	78,4	14,4	-	7,2
Кр.99	112	92,0	6,3	1,7	-

Примечание: Кр.99 – Краснодарская 99

Количество клеток с бивалентной ассоциацией хромосом (21^{II}) у гибридов в процентном отношении колебалось от 29,6% у линии МБ/6 до 78,4% у линии МК/41. Процент клеток с мультивалентной ассоциацией хромосом у всех линий значительно выше, чем у Краснодарская 99. Мультиваленты у изучаемых растений были представлены тривалентами, квадривалентами как закрытого, так и открытого типа. Число мультивалентов, приходящихся на одну клетку, не превышало двух. У линий МБ/26, МБ/27, МБ/29, МБ/30, МК/35, МК/36, МК/38, МК/39, МК/40, МК/41 обнаружены мультиваленты, при этом у более, чем 50% клеток ассоциация хромосом представлена бивалентами. Следовательно, генетический материал *T. miguschovae* у них представлен в иде транслокаций.

В линиях МБ/1, МБ/3, МБ/6, МБ/28, МК/17 и МК/37 наряду бивалентами и унивалентами ($20^{II}+2^{I}$) формируется относительно большой процент клеток с мультивалентами. Можно предположить, что наряду с замещением целых хромосом они также могут имеют транслокации от *T. miguschovae.*

В таблице 24 приведены результаты изучения мейоза у гибридов F_1, полученных от скрещивания 16 цитологически-стабильных линий, несущих генетический материал *Ae. speltoides*, с сортом Краснодарская 99. В линиях АА/5, АА/17, АА/18, АА/19, АБ/2, АБ/11, АБ/23, АК/11, АК/18, АК/19, АК/33 и АК/35 генетический материал синтетической формы Авродес представлен в виде транслоцированного сегмента, так как большинство клеток имеют ассоциацию хромосом 21^{II}. Линии АА/6, АА/20 и АК/31 имели высокий процент клеток с ассоциацией хромосом $20^{II}+2^{I}$ и мультивалентами, таким образом генетический материал синтетика у них представлен одновременно замещенными хромосомами, и транслокациями. У линии АК/34 процент клеток с мультивалентами незначительно превышает таковой у сорта Краснодарская 99, при этом процент клеток с бивалентами достаточно высок (85,7%). Можно предположить, что передача генетического материала от синтетика в эту линию произошла посредством гомеологичной рекомбинации.

Таблица 24. Анализ мейоза в MI МКП у гибридов F_1, полученных от скрещивания цитологически стабильных линий Авродес / *T. aestivum* с сортом Краснодарская 99

Комбинация скрещивания	Изучено клеток шт.	21^{II}, (%)	$20^{II}+2^{I}$, (%)	Клетки с унивалентами, отличными от 2^{I}, (%)	Клетки с мультивалентами, (%)
АА/5×Кр.99	147	61,7	34,0	-	4,3
АА/6×Кр.99	151	37,2	54,9	2,0	5,9
АА/17×Кр.99	156	76,8	15,8	-	7,4
АА/18×Кр.99	163	71,3	20,9	1,5	6,3
АА/19×Кр.99	154	65,7	26,9	1,8	5,6
АА/20×Кр.99	152	35,6	54,8	3,8	5,8
АБ/2×Кр.99	153	58,5	35,8	-	5,7
АБ/11×Кр.99	168	63,2	29,4	-	7,4
АБ/23×Кр.99	165	76,9	16,9	-	6,2
АК/11×Кр.99	152	65,4	25,0	1,9	7,7
АК/18×Кр.99	164	59,3	32,8	1,6	6,3
АК/19×Кр.99	165	64,6	27,7	1,5	6,2
АК/31×Кр.99	164	32,9	57,8	3,1	6,2
АК/33×Кр.99	162	72,6	16,1	3,2	8,1
АК/34×Кр.99	156	85,7	10,7	1,8	1,8
АК/35×Кр.99	165	60	30,7	3,1	6,2
Краснодарская 99	112	92,0	6,3	1,7	-

Результаты анализа мейоза в MI МКП у гибридов F_1, полученных от скрещивания мейотически стабильных линий RS1 / *T. aestivum* сорта Краснодарская 99, представлены в таблице 25. Передача генетического материала в форме транслокаций выявлена у линий GS/32, GS/33, GS/15, GS/20. У линий GS/1, GS/24, GS/29, и GS/31 он представлен в виде транслокаций и замещения целых

хромосом. В линиях GS/14, GS/16 и GS/19 преобладает процент клеток с $20^{II}+2^{I}$, в то же время, клеток с мультивалентами в них не выявлено. Это может указывать на передачу генетического материала от формы RS1в виде замещенных хромосом.

Таблица 25. Анализ мейоза в MI МКП у гибридов F_1, полученных от скрещивания цитологически стабильных линий RS1 / *T. aestivum* с сортом Краснодарская 99

Комбинация скрещивания	Изучено клеток	21^{II}, (%)	$20^{II}+2^{I}$, (%)	Клетки с унивалентами, отличными от 2^{I}, (%)	Клетки с мультивалентами, (%)
GS/1×К99	152	53,9	36,5	3,8	5,8
GS/14×К99	154	25,9	70,4	3,7	-
GS/15×К99	156	60,7	30,4	1,8	7,1
GS/16×К99	167	31,3	65,7	3,0	-
GS/19×К99	168	8,0	86,8	5,2	-
GS/20×К99	157	66,7	28,0	-	5,3
GS/24×К99	162	40,3	53,2	-	6,5
GS/29×К99	153	50,9	43,4	-	5,7
GS/31×К99	168	42,6	47,1	2,9	7,4
GS/32×К99	160	76,7	21,7	-	1,6
GS/33×К99	168	69,0	22,1	1,5	7,4
Краснодарская 99	112	92,0	6,3	1,7	-

Чтобы определить форму интрогресий от синтетической формы RS7, изучали мейоз в метафазе I в материнских клетках пыльцы у гибридов F_1, полученных от скрещивания 10 цитологически стабильных линий с сортом Краснодарская 99 (табл. 26). К линиям, несущим транслокации относятся SU/11, SU/12, SU/15, SU/16 и SU/18. В линиях SU/10, SU/14 и SU/20 присутствуют и замещенные хромосомы, и транслокации. В двух линиях – SU/8 и SU/13 – при высоком проценте клеток с ассоциацией хромосом (21^{II}) - 89,6% и 92,1% соответственно, клеток с мультивалентами не выявлено. В дополнении к этому они отличаются от сорта

Краснодарская 99, устойчивостью к листовой ржавчине, следовательно, можно предположить, что передача генетического материала от синтетиков в эти линии произошла посредством гомеологичной рекомбинации.

Таблица 26. Анализ мейоза в MI МКП у гибридов F_1, полученных от скрещивания цитологически стабильных линий RS7 × *T. aestivum* с сортом Краснодарская 99

Комбинация скрещивания	Изучено клеток	21^{II}, (%)	20^{II}+2, (%)	Клетки с унивалентами, отличными от 2^{I}, (%)	Клетки с мультивалентами, (%)
SU/8 × Кр.99	168	89,6	7,8	2,6	-
SU/10 × Кр.99	205	54,3	45,0	-	0,7
SU/11 × Кр.99	226	66,8	30,4	2,8	-
SU/12 × Кр.99	178	68,3	31,7	-	-
SU/13 × Кр.99	128	92,1	7,1	0,8	-
SU/14 × Кр.99	256	45,6	43,3	11,1	-
SU/15 × Кр.99	305	79,6	14,5	4,2	1,7
SU/16 × Кр.99	248	79,8	11,2	6,2	2,8
SU/18 × Кр.99	334	65,4	21,1	11,2	2,3
SU/20 × Кр.99	312	47,5	38,4	12,2	1,9
Краснодарская 99	112	92,0	6,3	1,7	-

В целом, из 53 изученных линий, большинство - 30 линий несёт транслокации (табл. 27). У 17 линий обнаружены одновременно и замещения, и транслокации. Выявлено 3 линии с рекомбинациями и ещё 3 с замещеннием хромосом. с Большинство выявленых транслокаций обнаружено у линий, полученном с участием форм *T. miguschovae* и Авродес. Очевидно, это связанно с наличием у *T. miguschovae* двух гомологичных (A и D) и одного частично гомологичного (G) с мягкой пшеницей геномов, а в случае геномно-замещенной формы Авродес – наличием у неё гена(ов), способного стимулировать гомеологичную конъюгацию

хромосом. Отобраны линии АК/34, АА/33 и GS/32, которые по цитологической стабильности приближались к сортам мягкой пшеницы. Наряду с этим они характеризуются высокой устойчивостью к листовой ржавчине и низкорослостью, а в случае линии АК/34 ещё и высоким содержанием белка и клейковины. Несомненно, эти линии имеет большую перспективу для использования в селекции мягкой пшеницы.

Таблица 27. Результаты анализа мейотически стабильных линий (21^{II}) на наличие замещенных хромосом и транслокаций

Синтетичекая форма	Всего линий	Количество линий несущих,			
		рекомбинации	замещение хромосом	транлокации	замещение хромосом и транслокации
T. miguschovae	16	-	-	9	7
Авродес	16	1	-	12	3
RS1	11		3	4	4
RS7	10	2	-	5	3
Всего	53	3	3	30	17

Таким образом, передача генетического материала от используемых синтетических форм в основном происходит посредством отдельных транслокаций и их комбинаций с замещением хромосом, в то же время в определенных случаях она может осуществляться с помощью гомеологичной рекомбинации.

Для более точного определения формы передачи генетического материала и идентификации межхромосомных перестроек, часть линий была отобрана для изучения с помощью цитогенетических и молекулярно-цитогенетических методов анализа, таких как метод дифференицальной С-окраски и флуоресцентная *in situ* гибридизация (FISH).

3.2.3. Изучение интрогрессивных линий методом дифференциальной окраски хромосом

Цитогенетические маркеры являются эффективным инструментом анализа межхромосомных перестроек и обнаружения чужеродного генетического материала (Gill et al., 1991, Babaeva et al., 2007, 2015). Цитогенетические подходы широко использовались для картирования хромосом и/или переноса генов устойчивости от видов, родственных трибе Triticeae. Метод С-окраски (С - бендинга) использовался для оценки эволюционных взаимоотношений, идентификации чужеродных хромосом в интрогрессивных линиях пшеницы и амфидиплоидах. К настоящему времени разработаны различные модификации С-окрашивания хромосом растений, включая злаковые культуры. Наиболее широкое применение получил метод, разработанный в лаборатории функциональной морфологии хромосом Института молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта РАН (Badaeva et, al., 1994).

С применением метода С-окраски хромосом на наличие хромосомных перестроек изучено 38 интрогрессивных линий. У 20 линий с генетическим материалом, переданным от *T. miguschovae* межхромосомные перестройки в основном затронули хромосомы геномов B и D мягкой пшеницы (табл. 28). Транслокация от ржи (*S. sereale*) 1BL.1RS выявлена у большинства линий комбинации МК за исключением МК/37. Данная транслокация передана в линии от сорта-реципиента Кавказ. У устойчивых к листовой ржавчине линий СМБ/46, СМБ/49, СМК/1 установлено наличие только 1BL.1RS транслокации. Вероятно, данный метод не позволяет выявить в этих линиях интрогрессии от *T. miguschovae*. Транслокация 5BS.5BL-5GL идентифицирована в линиях МБ/1, МБ/3, МБ/26, МБ/28, МБ/29, МБ/30, МК/35, МК/36, МК/37, МК/38, МК/39, МК/40, МК/41, МК/42 и МК/44. По данным, опубликованным рядом авторов транслокация 5BS.5BL-5GL давольно часто встречается при использовании в скрещиваниях оброзцов *T. timopheevii* или амфидиплоидов, полученных с его участием (Салина и др., 2008; Бадаева и др., 2010).

Таблица 28. Интрогрессивные линии мягкой пшеницы, полученные с участием *T. miguschovae*, у которых методом дифференциального окрашивания хромосом выявленны транслокации и замещения

Вид хромосомных перестроек		Транслокация					Замещение				
Локализация на хромосоме / Линия	1B	5B	6B	2D	4D	5D	2B	1D	4D	5D	6D
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^{Ae})			6D(6D^{t})
МБ/28		T5BS.5BL-5GL	T6BS.6BL-6GL				2B(2G)	1D(1D^{t})			6D(6D^{t})
МБ/29		T5BS.5BL-5GL						1D(1D^{t})			
МБ/30		T5BS.5BL-5GL	T6BS.6BL-6GL								
МБ/31					T4DL						
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/38	T1BL.1RS	T5BS.5BL-5GL	T6BS.6BL-6GL								
МК/39	T1BL.1RS	T5BS.5BL-5GL									
МК/40	T1BL.1RS	T5BS.5BL-5GL									
МК/41	T1BL.1RS	T5BS.5BL-5GL									
МК/42	T1BL.1RS	T5BS.5BL-5GL	T6BS.6BL-6GL								
МК/43	T1BL.1RS										
МК/44	T1BL.1RS	T5BS.5BL-5GL			T4DL						
СМБ/46	T1BL.1RS										
СМБ/49	T1BL.1RS										
СМК/1	T1BL.1RS										

Наличие этой транслокации в линиях с генетическим материалом от *T. miguschovae* объясняется тем, что один из геномов этой формы - геном G происходит от вида *T. militinae*. За исключением МБ/29, МК/39, МК/40, МК/41 и МК/44 все линии с 5BS.5BL-5GL несут транслокацию T6BS.6BL-6GL. В линиях МБ/31 и МК/44 обнаружена транслокация от *T. miguschovae* на 4D хромосоме. У МК/35 дополнительно идентифицированы транслокации на 2 и 5 хромосомах D-генома. Наряду с обнаруженными транслокациями у линии МБ/28 выявлены три замещенные хромосомы 2B(2G), 1D(1D^{t}), 6D(6D^{t}). В линиях МБ/1, МБ/3 и МБ/26 дополнительно замещены две хромосомы генома D мягкой пшеницы на 1D(1D^{t}) и 6D(6D^{t}) *Ae. taushii*. В линии МК/36 идентифицированы замещения 1D(1D^{t}), 5D(5D^{t}). Хромосома 4D мягкой пшеницы замещена на 4D^{t} от *Ae. tauschii* у линии МК/37. Отобраны линии с идентифицированными хромосомными перестройками, затрагивающими геном A. У линии МБ/29 обнаружена транслокация T5AL-5A^{t}L.5A^{t}S. В линии МК/43 выявлена замещенная хромосома мягкой пшеницы на соответствующую от *T. miguschovae* (2A-2A$^{T.\ mig.}$). На рисунке 19 представлен С-окрашенный кариотип линии МК/36.

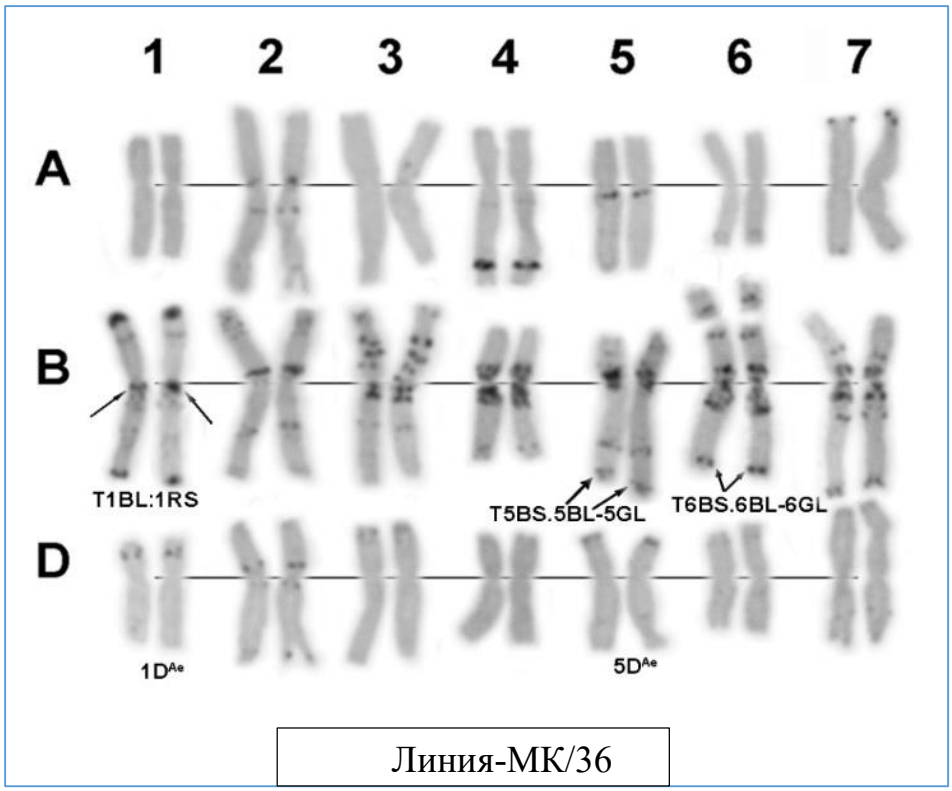


Рисунок 19. С-окрашенный кариотип линии МК/36 с генетическим материалом *T. miguschovae*

В целом, интрогрессии от *T. miguschovae* затронули хромосомы 2A, 2B, 5B, 6B, 1D, 4D, 5D и 6D мягкой пшеницы. Это свидетельствует о значительном генетическом разнообразии полученных интрогрессивных линий. Замещения 4D($4D^t$), 5D($5D^t$) и 6D($6D^t$) идентифицированы впервые и, следовательно, они могут нести новые гены, контролирующие ценные для селекции признаки, и в том числе, что очень важно, новые гены устойчивости к болезням пшеницы.

Для выявления генетического материала *Ae. speltoides,* проводили дифференциальное окрашивание хромосом у 8 интрогрессивных линий мягкой пшеницы, полученных на основе синтетической формы Авродес, (табл. 29). Полученные результаты подтвердили предположение о различии интрогрессий генетического материала *Ae. speltoides* в полученных нами линиях. В основном интрогрессии затронули хромосомы генома D, при этом большинство изученных линий, за исключением АК/35, одновременно имели межхромосомные перестройки на хромосомах 2D и 5D.

Таблица 29. Интрогрессивные линии мягкой пшеницы, полученные с участием Авродес, с выявленными методом дифференциального окрашивания хромосом транслокациями и замещениями

Линия	Транслокация						Замещение
Локализация на хромосоме	2A	1B	1D	2D	5D	6D	5D
АК/11	T2A	T1BL.1RS	T1D	T2D	T5D		
АА/17		T1BL.1RS		T2D	T5D	T6DL	
АА/18		T1BL.1RS		T2D	T5D		
АА/20		T1BL.1RS		T2DL.2DS-2SS			5D(5S)
АК/31		T1BL.1RS		T2DL.2DS-2SS			5D(5S)
АК/32		T1BL.1RS		T2DL.2DS-2SS			5D(5S)
АК/33		T1BL.1RS		T2D	T5D		
АК/35		T1BL.1RS					

Так, у линий АА/17, АА/18, АК/11 и АА/33 выявлены транслокации T2D и T5D. На рисунке 20а представлен кариотип линии АА/18, которая несет транслокации от *Ae. speltoides* на 2 и 5 хромосомах генома D. Наряду с этим, у линии АА/17 была выявлена транслокация на хромосоме 6D, а у линии АК/11 – на хромосомах 2А и 1D. Транслокация от ржи на 1В пшеничной хромосоме выявлена у всех линий за исключением АК/11. Линии АА/20, АК/31 и АК/32 наряду с транслокацией T2DL.2DS-2SS несут замещение 5D хромосомы мягкой пшеницы на 5S от Авродес (рис.20б).

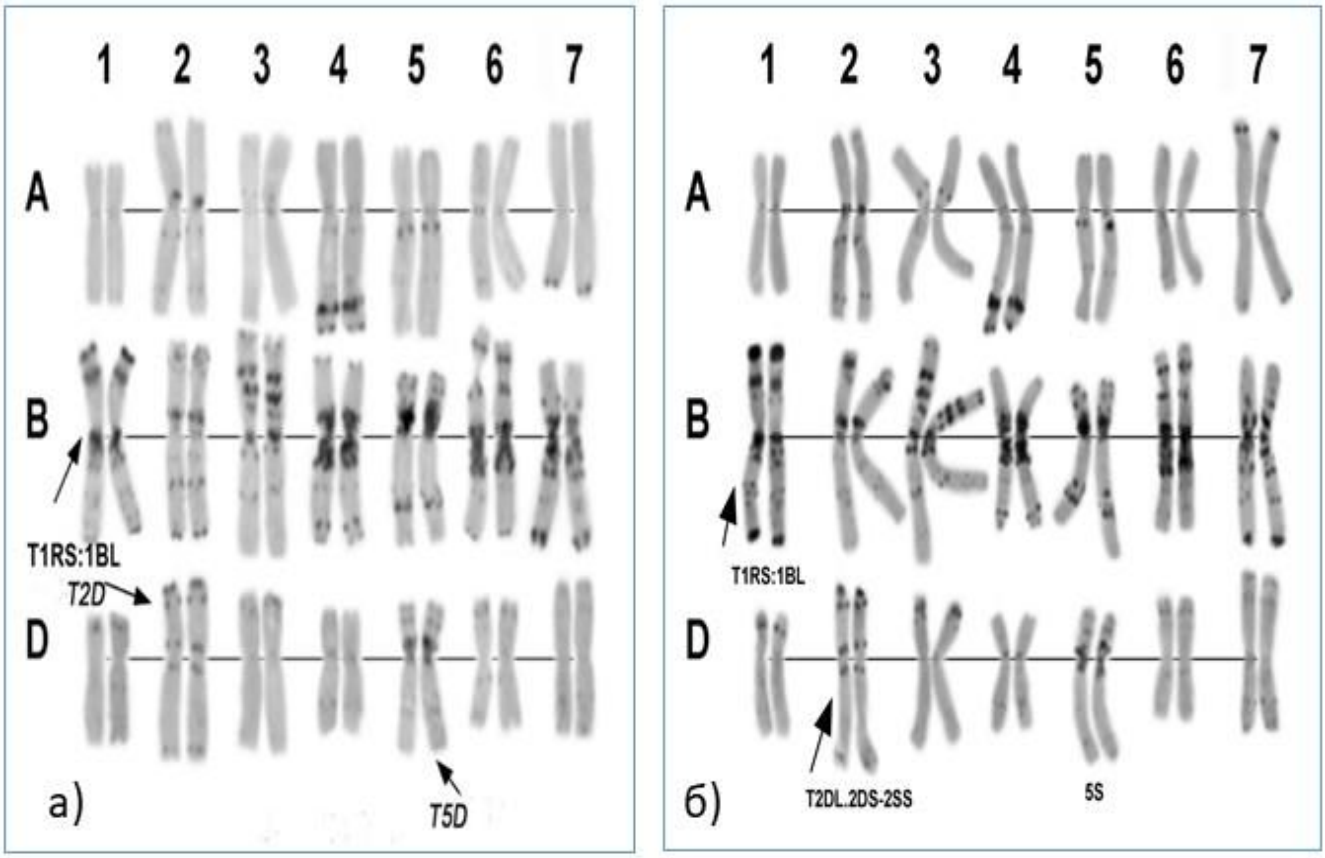


Рисунок 20. С-окрашенные кариотипы интрогрессивных линий: **а)** АА/18; **б)** АА/20

Таким образом, генетический материал от синтетической формы Авродес в большинстве случаев передается посредством транслокаций, и в некоторых случаях, за счёт замещения целых хромосом. При этом, главным образом, интрогрессии затрагивают хромосомы генома D. Полученные результаты вполне

ожидаемы, учитывая, что у формы Авродес генома D мягкой пшеницы замещен на геном S от *Ae. speltoides* (Жиров, 1989; Tsattsenco, Zhirov, Davoyan, 1993).

Наличие межхромосомных перестроек определялось у 4 линий с генетическим материалом синтетической формы RS1 и у 6 линий, полученных с участием формы RS7. Транслокации были идентифицированы на 7A, 1B, 2B, 5B 1D 2D 5D хромосомах (таблица 30). У линий GS/19, GS/34 обнаружена транслокация 5BS.5BL-5GL от *T. miguschovae*. Линия GS/34, к тому же, имеет транслокации на первой, второй и пятой хромосоме генома D. Транслокация T2BL.2BS-2GL установлена у линии GS/29 (рис. 21). Идентифицированы транслокации: T7A у линии SU/19 и T2D, T5D у линии SU/20. Транслокация T1BL.1RS, переданная от сортов Аврора и Кавказ, выявлена в линиях GS/33, GS/34, SU/14, SU/9, SU/15 и SU/16.

Таблица 30. Интрогрессивные линии мягкой пшеницы, полученные с участием форм RS1 и RS7, с выявленными методом дифференциального окрашивания транслокациями

Локализация на хромосоме / Линия	7A	1B	2B	5B	1D	2D	5D
GS/19				T5BS.5BL-5GL			
GS/29			T2BL.2BS-2GL				
GS/33		T1BL.1RS					
GS/34		T1BL.1RS		T5BS.5BL-5GL	T1DL	T2DL	T5D
SU/9		T1BL.1RS		T5BS.5BL-5GL	T1DL		
SU/14		T1BL.1RS					
SU/15		T1BL.1RS					
SU/16		T1BL.1RS					
SU/19	T7A						
SU/20						T2D	T5D

Замещения хромосом у большинства линий происходили в геноме D (табл. 31). Исключением служила линия GS/29, у которой 5B хромосома пшеницы замещена на 5G от *T. miguschovae* (рис. 21).

Таблица 31. Интрогрессивные линии мягкой пшеницы, полученные с участием форм RS1 и RS7 с выявленными методом дифференциального окрашивания замещениями хромосом

Локализация на хромосоме / Линия	5B	1D	2D	4D	5D	7D
GS/29	5B(5G)					
GS/34				4D(4S)		
SU/9				4D(4S)	5D(5S)	7D(7S)
SU/14					5D(5S)	7D(7S)
SU/16					5D(5S)	
SU/19		1D(1S)	2D(2S)	4D(4S)	5D(5S)	7D(7S)

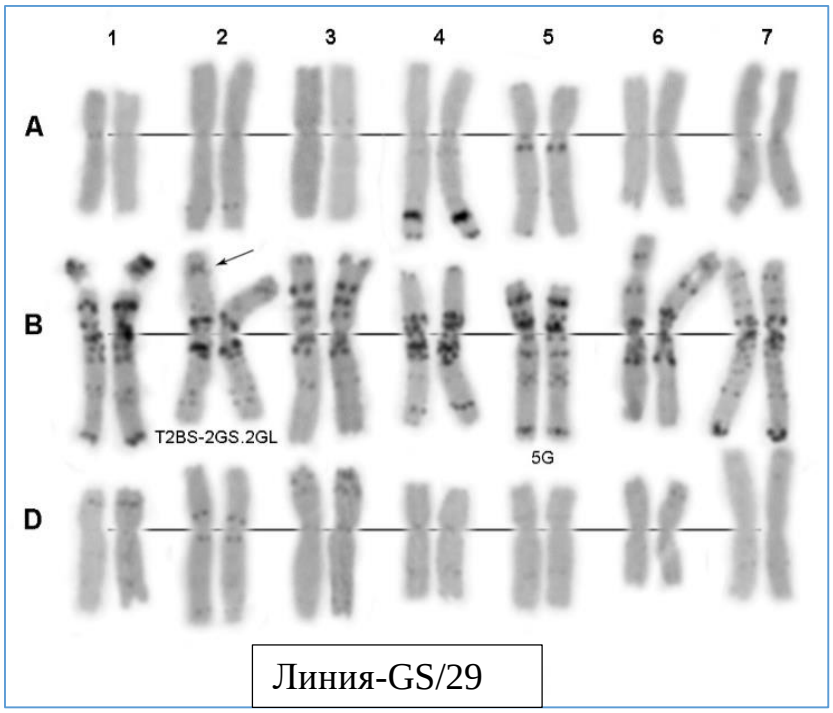


Рисунок 21. С-окрашенный кариотип линии GS/29 с генетическим материалом *T. miguschovae*

Линия GS/34 несёт замещенную хромосому 4S от Авродес.В линии SU/14 выявлены две замещенные хромосомы 5D(5S) + 7D(7S). Линия SU/16 имеет замещение по хромосоме 5D(5S). Замещение 4D(4S) идентифицировано в линии SU/9. Особый интерес представляет линия SU/19, которая несет транслокацию на хромосоме 7A и пять, замещенных по геному D хромосом: 1D(1S); 2D(2S); 4D(4S); 5D(5S); 7D(7S). Несмотря на свою цитологическую стабильность, линия SU/19 фенотипически ближе к синтетической форме Авродес и обладает высокой устойчивостью к комплексу грибных болезней мягкой пшеницы. В линиях GS/19, GS/33, SU/14, SU/15 и SU/20 замещения хромосом не выявлены.

Таким образом, передача генетического материала от рекомбинантных синтетических форм RS1 и RS7 происходит как в форме отдельных транслокаций и замещенных хромосом, так и их комбинацией. Следует отметить, что транслокации T2A, T1D, T2D, T5D и замещение хромосом 4D(4S), 5D(5S), 7D(7S) получены впервые и могут представлять особый интерес для селекции мягкой пшеницы.

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

Одним из подходов, применяемых на сегодняшний день для генотипирования, является молекулярно-цитогенетический, связанный со сравнительным анализом структуры хромосом путем их индивидуального маркирования. Для маркирования хромосом в настоящее время часто применяется флуоресцентная *in situ* гибридизация (FISH) с различными зондами, а также геномная *in situ* гибридизация (GISH).

Методом FISH с применением зондов pSc119.2, pAs1, Spelt1 проведено генотипирование 31 линии мягкой пшеницы с целью выявления хромосомных районов, содержащих различные перестройки. Последовательность зонда pSc119.2 выделена из теломерного гетерохроматина ржи *S. cereale* L. (Bedbrook et al., 1980), гибридизуется главным образом с хромосомами генома B мягкой пшеницы, при этом была выявлена её локализация на хромосомах ряда других злаков (Schneider

et al., 2003). Повтор pAs1, который был изолирован из генома *Ae. tauschii* (Rayburn et al., 1986), гибридизуется главным образом с хромосомами генома D мягкой пшеницы (Schneider et al., 2003). Сообщалось, что по некоторым сайтам гибридизации с повторов pSc119.2 и pAs1 у пшеницы наблюдается межсортовой полиморфизм (Schneider et al., 2003). Повторяющаяся последовательность Spelt1 с длиной мономера 150 п.н. выделена из геномной ДНК *Ae. speltoides* var. ligustica и встроена в плазмиду pBluescript II SK+ (Салина и др., 1997). Блоки повтора Spelt1имеют локализацию в субтеломерных районах хромосом *Ae. speltoides*. При этом, одновременная гибридизация зондов Spelt1 и pSc119.2 позволяет выявлять индивидуальные хромосомы пшеницы (Schneider et al., 2003) и эгилопса (Badaeva et al., 1996a).

В результате анализа 31 интрогрессивной линий методом FISH различные межхромосомные перестройки с участием чужеродных хромосом были выявлены в 29-ти из них(рис.22).

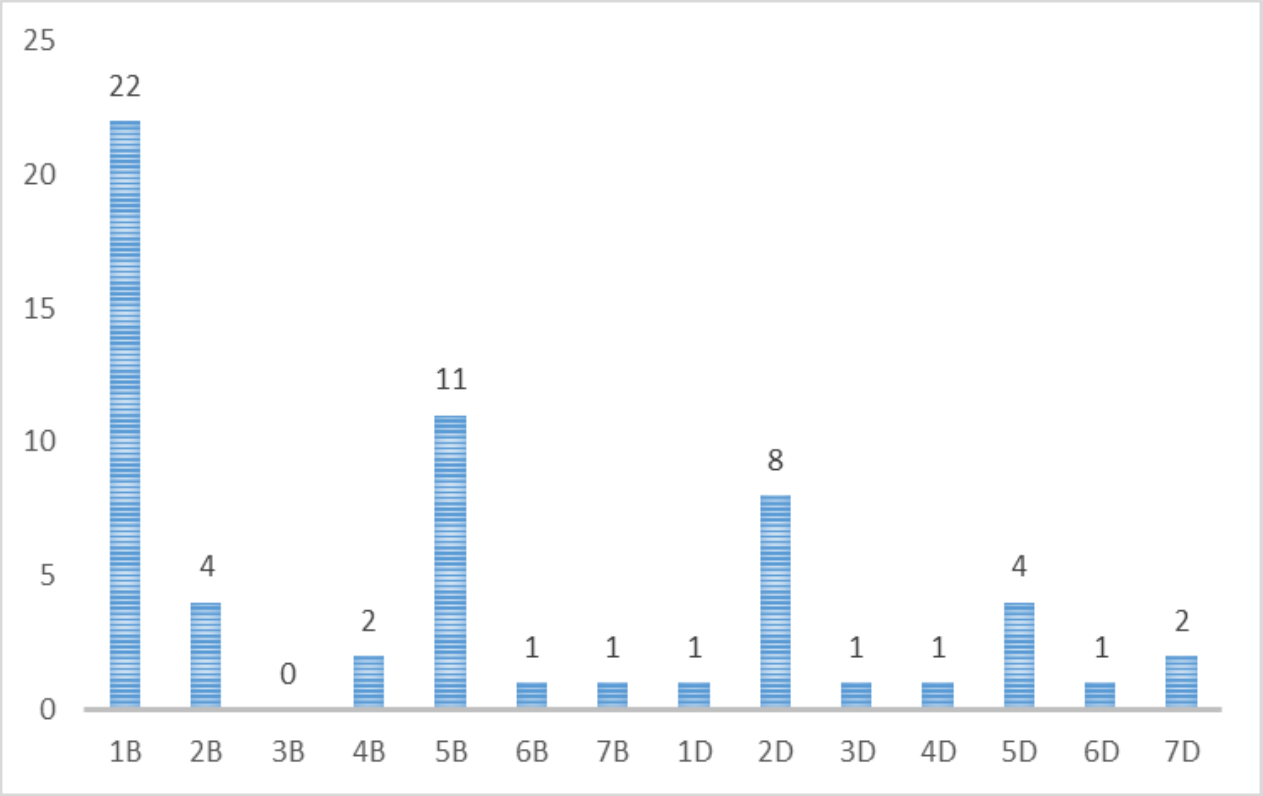


Рисунок 22. Число интрогрессивных линий с межхромосомными перестройками, выявленными в геномах B и D

Наиболее часто они обнаруживались в хромосомах первой гомеологичной группы 1B (22 линии), пятой гомеологичной группы 5B (11 линий) и 5D (4 линии) и второй гомеологичной группы – 2B (4 линии) и 2D (8 линий). Идентифицированы перестройки на 4B (2 линии) и 7D (2 линии) хромосомах. Выявлены единичные случаи межхромосомных перестроек по хромосомам 6B, 7B, 1D, 3D, 4D и 6D. Не выявлено перестроек по 3B хромосоме. Хромосомы генома A оказались практически незатронутыми. У нескольких линий – АА/5, АБ/11, GS/24, SU/15, SU/16 и SU/18 обнаружены блоки повтора Spelt1 на длинных плечах одной из пар хромосом генома A, это может свидетельствовать о наличии генетического материала от *Ae. speltoides*. Однако нам не удалось идентифицировать данную хромосому. Полный набор хромосом пшеницы, без каких-либо хромосомных перестроек, установлен в линиях МБ/13, АА/10, GS/32, SU/8 и SU/12.

Интрогресии чужеродного материала, ведущие свое происхождение от генома G *T. militinae* и генома D^t *Ae. tauschii* (через геномно-добавленную форму *T. miguschovae*), в основном затронули хромосомы родственных геномов B (2B и 5B) и D (5D) (табл. 32). Так, у линий МБ/26, МК/17, МК/35 выявлено замещение хромосомы мягкой пшеницы 2B на 2G от *T. miguschovae*. Линия МК/35 дополнительно несет транслокацию $T5D^tS.5DL$ от *Ae. tauschii*. Замещение $5D(5D^t)$ определено у линии МК/36. У всех линий выявлена транслокация от ржи 1BL.1RS, которая передана в линии от сорта-реципиента Кавказ. В устойчивых к листовой ржавчине линиях СМБ/46, СМБ/49, СМК/1 установлено только наличие 1BL.1RS транслокации, что согласуется с данными, полученными при анализе методом диференциального окрашивания хромосом.

Передача генетического материала от *Ae. speltoides* в линиях, полученных на основе Авродес, происходит в форме транслокаций и затрагивает хромосомы геномов B и D. В линиях АА/1, АА/2, АК/35, АА/5, АА/6, АА/21 идентифицирована транслокация от ржи T1RS.1BL. Транслокация T5BS.5BL-5SL выявлена в линиях АА/19, АА/21, АБ/11. Идентифицированы транслокации T2DS.2DL-2SL в линиях АА/21, АБ/11. У линии АК/35 обнаружена транслокация на 6B хромосоме T6BL.6BS-6SS.

Таблица 32. Результаты анализа интрогрессивных линий, полученых с участием форм *T. miguschovae* и Авродес, методом флуоресцентной *in situ* гибридизации

Линия	Характер перестроек	
	Транслокация	Замещение
МБ/13	Межхромосомные перестройки не обнаружены	
МБ/26		2B(2G)
МК/17	T1BL.1RS	2B(2G)
МК/35	T1BL.1RS; T5D^{t}S.5DL	2B(2G)
МК/36	T1BL.1RS	5D(5D^{t})
СМК/1	T1BL.1RS	
СМБ/46	T1BL.1RS	
СМБ/49	T1BL.1RS	
АА/1	T1BL.1RS	
АА/2	T1BL.1RS	
АА/5	T1BL.1RS	
АА/6	T1BL.1RS	
АА/10	Межхромосомные перестройки не обнаружены	
АА/19	T5BS.5BL-5SL	
АА/21	T1BL.1RS; T5BS.5BL-5SL; T2DS.2DL-2SL	
АБ/11	T2DS.2DL-2SL; T5BS.5BL-5SL	
АК/35	T1BL.1RS; T6BL.6BS-6SS	

В работу по идентификации чужеродных интрогрессий были включены две линии, полученные с применением синтетической формы RS1 (*T. miguschovae* /Авродес). Генетического материала Авродес в них не выявлено, однако они несут транслокации от *T. miguschovae*. Так, транслокации T2BS.2GL и T5BS.5GL идентифицированы у линии GS/29, а линия GS/33 несёт транслокации T2DS.2DL-2SL, T5D^{t}S.5DL и T1BL.1RS.

Методом FISH изучено 12 линий, полученных с участием формы RS7 (табл. 33). Хромосомные перестройки в форме транслокаций и замещения хромосом выявлены у всех линий за исключением SU/8 и SU/12. В большинстве случаев, они обнаруживаются на хромосомах 5B - у 7 линий и 2D – у 4 линии в форме транслокаций от *Ae. speltoides.* От этого вида, так же, были идентифицированы транслокации на хромосомах 1D, 2D, 3D, 5D, 7D, 4B, 5B. Наряду с этим отобраны линии SU/10 и SU/14 с замещением 1B(1S) от *Ae. speltoides* и линия SU/9 у которой идентифицировано замещение 4D(4S) от этого вида.

Таблица 33. Результаты анализа интрогрессивных линий, полученных с участием формы RS7, методом флуоресцентной *in situ* гибридизации

Линия	Источник	Наличие транслокаций и замещения хромосом
SU/8	*Ae. speltoides* *Ae. umbellulata*	Не обнаружены
SU/9	*Ae. speltoides*	T1BL.1RS, T1DS.1DL-1SL T2DS.2DL-2SL, T5BS.5BL-5SL, 4D(4S)
	Ae. umbellulata	T7DL.7DS-7US
SU/10	*Ae. speltoides*	1B(1S), T5BS.5BL-5SL
	Ae. umbellulata	Не обнаружены
SU/11	*Ae. speltoides*	T1BL.1RS, T3DS.3DL-3SL
	Ae. umbellulata	Не обнаружены
SU/12	*Ae. speltoides* *Ae. umbellulata*	Не обнаружены
SU/13	*Ae. speltoides*	T1BL.1RS, T5BS.5BL-5SL
	Ae. umbellulata	Не обнаружены
SU/14	*Ae. speltoides*	1B(1S), T7DL-7SL.7SS, T5BS.5BL-5SL, T7B
	Ae. umbellulata	T2DS.2DL-2UL
SU/15	*Ae. speltoides*	T1BL.1RS, T2DS.2DL-2SL, T5BS.5BL-5SL
	Ae. umbellulata	Не обнаружены
SU/16	*Ae. speltoides*	T1BL.1RS, T5D
	Ae. umbellulata	Не выявлены
SU/17	*Ae. speltoides*	T1BL.1RS, T5BS.5BL-5SL
	Ae. umbellulata	Не обнаружены
SU/18	*Ae. speltoides*	T1BL.1RS
	Ae. umbellulata	Не обнаружены
SU/19	*Ae. speltoides*	T1BL.1RS, T2DS.2DL-2SL, T4BS, T5BL
	Ae. umbellulata	Не обнаружены

Полученные результаты объясняются, во - первых, тем, что в синтетических формах Авродес и Авролата геном D мягкой пшеницы замещен на геномы S от *Ae. speltoides* и U от *Ae. umbelllata*, во-вторых, *Ae. speltoides* является вероятным донором генома B и, в-третьих, способностью синтетика Авродес стимулировать гомеологичную конъюгацию хромосом (Tsatsenco et al., 1993).

Выявлены линии, у которых обнаружен генетический материал сразу от двух видов - *Ae. speltoides* и *Ae. umbellulata*. Так, у линии SU/9 (рис. 23а) определены транслокации T7DL.7DS-7US в коротком плече хромосомы 7D от *Ae. umbellulata* и на плечах хромосом 5BL, 1DL, 2DL от *Ae. speltoides*. В дополнении к этому, она имеет замещение хромосомы 4D на хромосому 4S *Ae. speltoides*. Линия SU/14 (рис. 23б) содержит транслокацию на длинном плече хромосомы 2D от *Ae. umbellulata* и транслокации T5BS.5BL-5SL, T7DL-7SL.7SS и T7B от *Ae. speltoides*. Важно отметить, что транслокации T1DS.1DL-1SL, T2DS.2DL-2UL, T7DL.7DS-7U наряду с замещение 4D(4S) получены впервые.

Главная задача, при создании формы RS7 заключалась в возможности объединения генетического материала от видов *Ae. speltoides* и *Ae. umbellulata* и передачи от них мягкой пшенице новых генов устойчивости к болезням. Вместе с тем, предполагалось что будут получены новые транслокации как в отдельности от каждого вида, так и совместно от них. По этой причине, линии SU/9 и SU/14 представляют особый интерес для расширения генетического изменчивости мягкой пшеницы, так как могут использоваться в качестве доноров новых генов устойчивости к болезням, переданных от видов *Ae. speltoides* и *Ae. umbellulata* и другим ценным признакам.

Выявлены ранее неизвестные хромосомные перестройки, такие как транслокации T3DS.3DL-3SL в линии SU/11 и T4BS в линии SU/19, природу которых пока установить не удалось. В линии SU/9 обнаружен ряд ранее неизвестных межхромосомных перестроек таких как, замещение 4D(4S) от *Ae. speltoides*, транслокация T7DL.7DS-7US от *Ae. umbellulata*, транслокация от *Ae. speltoides* в длинном плече хромосомы 1D и транслокация или делеция в длинном плече хромосомы 6D.

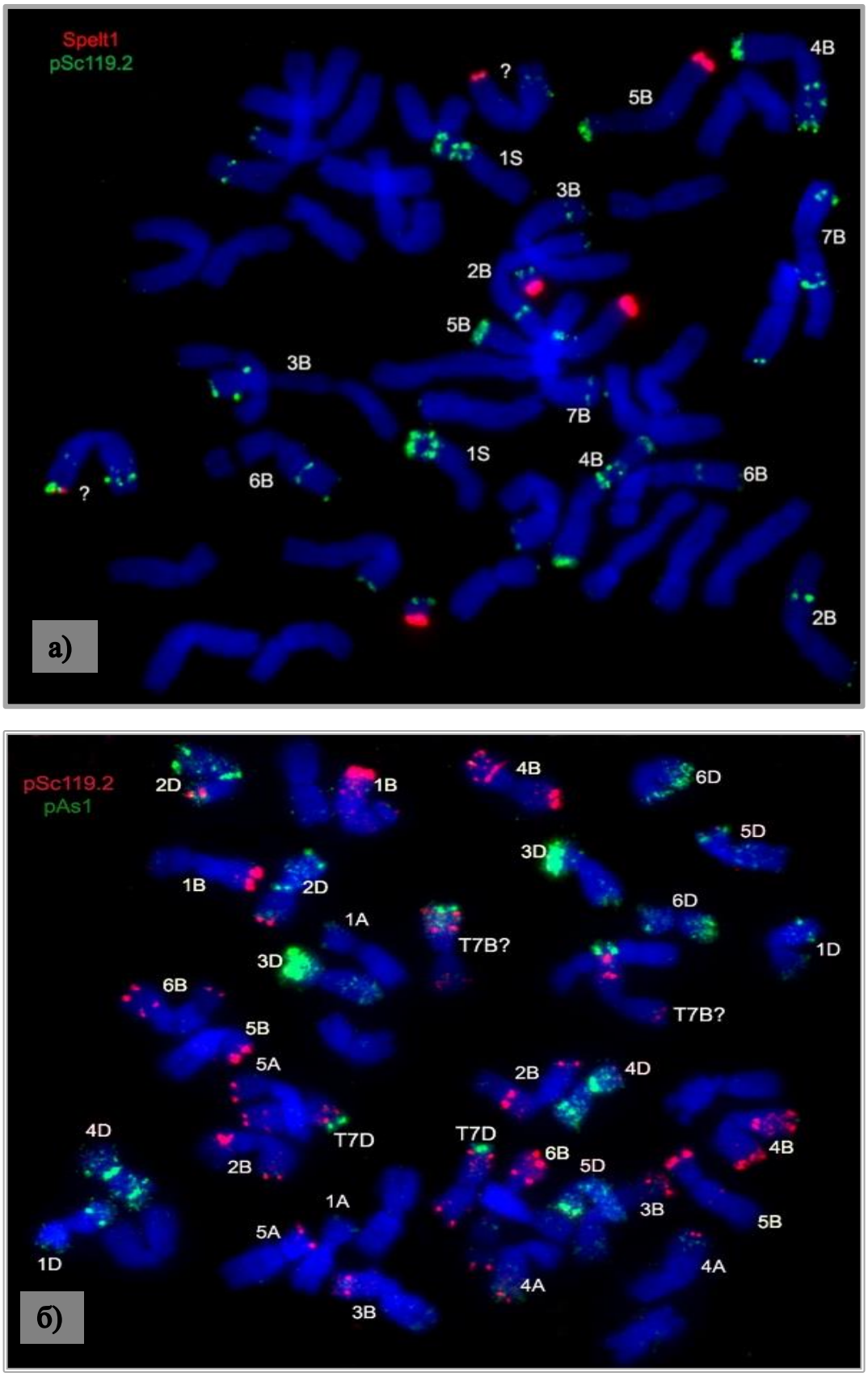


Рисунок 23. Гибридизация *in situ*: а) – с зондами Spelt1 (красный) и pSc119.2 (зеленый) на метафазных хромосомах линии SU/9; б) – с зондами pAs1 (зеленый) и pSc119.2 (красный) на метафазных хромосомах линии SU/14.

Линии с новыми интрогрессиями могут послужить основой для дальнейшей успешной селекционной работы направленной на расширение генетического потенциала мягкой пшеницы.

В изучаемых материале было выявлено от одной до восьми чужеродных интрогрессий. Наибольшее число хромосомных перестроек идентифицировано в линиях SU/9 и SU/14 по 8 и 5 соответственно. Линии SU/19 и МК/35 имели по 4 чужеродные интрогрессии. Чаще всего генетический материал передавался в форме транслокаций. Стоит отметить, что в случае линий, полученных на основе синтетической форм *T. miguschovae*, RS1(Авродес х *T. miguschovae*) и RS7(Авродес х Авролата), интрогрессии были как в форме транслокаций, так и замещения целых хромосом, в то время как у линий, полученных на основе Авродес, межхромосомные перестройки наблюдались только в форме транслокаций.

Заключение к главе 3.2.

В результате применения цитологических (изучение конъюгации хромосом в метафазе I мейоза), цитогенетических (С – бендинга) и молекулярно-цитогенетических (FISH) методов анализа были сделаны следующие выводы. Большинство изученных линий (за исключением МК/27 21^{II} - 81,7%) являются цитологически стабильными. Отобраны линии АК/34, АА/33 и GS/32, которые по цитологической стабильности приближались к сортам мягкой пшеницы. Наряду с этим они характеризуются высокой устойчивостью к листовой ржавчине, а в случае линии АК/34 ещё и высоким содержанием белка и клейковины. Несомненно, эти линии имеет большую перспективу для использования в селекции мягкой пшеницы.

Интрогрессия генетического материала от используемых синтетических форм, в основном происходит в форме отдельных транслокаций и их комбинацией с замещением хромосом. При использовании формы *T. miguschovae* это связано, с наличием у неё двух гомологичных (A и D) и одного частично гомологичного (G) с мягкой пшеницей геномов, а в случае геномно-замещенной формы Авродес – с

наличием у неё гена(ов), способного стимулировать гомеологическую коньюгацию.

У некоторых линий данные, полученные от применения различных методов, имели противоречия. Межхромосомные перестройки по 5B хромосоме в линии GS/29 методом C – бендинга определены как замещение, в то время как с помощью FISH было показано, что это транслокация. В линии SU/19 идентифицированы замещения по 5 хромосомам, тогда как методом FISH таковых не выявлено. В то же время в этой линии выявлены транслокации по 2D, 4B и 5B хромосоме. В линиях МБ/26, МК/35, МК/36 методом FISH не выявлены транслокации T5BL-6GL; T6BL-6GL. В связи с этим для получения достоверных данных целесообразно применение комплекса цитогенетические и молекулярно- цитогенетические методов анализа.

Интрогрессии от *T. miguschovae* затронули хромосомы 2A, 2B, 5B, 6B, 1D, 4D, 5D и 6D мягкой пшеницы. Это свидетельствует о значительном генетическом разнообразии полученных интрогрессивных линий. Замещения 4D($4D^t$), 5D($5D^t$) и 6D($6D^t$) идентифицированы впервые и, следовательно, могут нести новые гены, контролирующие ценные для селекции признаки, в том числе, что очень важно, новые гены устойчивости к болезням пшеницы. Транслокации от Авродес T2A, T1D, T2D, T5D и замещение хромосом 4D(4S), 5D(5S), 7D(7S) получены впервые. Выявлены ранее неизвестные хромосомные перестройки, такие как транслокации T3DS.3DL-3SL в линии SU.11 и T4BS у линии SU/19, природу которой пока установить не удалось. В линии SU/9 обнаружен целый ряд ранее не известных межхромосомных перестроек. Линии с новыми интрогрессиями могут быть полезны для расширения генетической изменчивости мягкой пшеницы и передачи ценных для её селекции признаков.

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

Достижения в области геномики пшеницы позволили идентифицировать гены и их аллельные вариации, которые контролируют многие хозяйственно важные признаки пшеницы. Развитие подходов молекулярной селекции также проложило путь для использования полезных аллелей этих генов для ускоренного улучшения пшеницы в рамках различных селекционных программ.

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

3.3.1. Идентификации генов устойчивости к листовой ржавчине

Традиционные методы определения генов устойчивости достаточно трудоемки и затратны по времени, в тоже время, использование ДНК-маркеров позволяет быстро и точно выявлять известные *Lr*-гены и отбирать нужные генотипы растений (Урбанович и др., 2006).

Исходя из родословных интрогрессивных линий, они могут содержать известные гены устойчивости к листовой ржавчине: *Lr9* переданный от *Ae. umbellulata*; *Lr28, Lr35, Lr36, Lr47, Lr51* и *Lr66* - от *Ae. speltoides*; *Lr21, Lr22a, Lr32, Lr39, Lr42* - от *Ae. tauschii*; *Lr50* от *T. timopheevii*. На этом основании была проведена ПЦР с помощью ДНК-маркеров, сцепленных с указанными выше генами. Предварительно анализировались доноры этих генов – образцы видов *Ae. umbellulata, Ae. speltoides, Ae. tauschii, T. timopheevii,* а также синтетические

гексаплоидные формы Авролата, Авродес и *T. miguschovae* с применением которых были созданы интрогрессивные линии.

3.3.1.1. Идентификация ДНК-маркеров, сцепленных с генами устойчивости к листовой ржавчине в образцах видов рода *Aegilops* и синтетических формах Авролата, Авродес и *T. miguschovae*

Важно отметить, что значительная часть переданных мягкой пшенице эффективных генов устойчивости к болезням, в том числе и к листовой ржавчине, происходит из генофонда её диких сородичей. В этой связи, актуальной задачей селекции является поддержание и всестороннее изучение коллекций дикорастущих видов и реликтовых форм.

Высокоэффективный в ряде стран Европы в том числе и в России (Zhemchuzina, Kurkova, 2010) ген *Lr9* является единственным известным геном устойчивости к листовой ржавчине, переданным в мягкую пшеницу от *Ae. umbellulata*. Молекулярный маркер J13, сцепленный с *Lr9*, находится на расстоянии 8 сМ от гена; длина соответствующего ему фрагмента амплификации составляет 1100 п.н. (Schachermayer et al., 1994). ДНК 12 иммунных к листовой ржавчине (тип реакции 0) образцов *Ae. umbellulata* анализировали с помощью маркера, сцепленного с геном *Lr9*. Анализ продуктов амплификации показал присутствие характерного фрагмента 1100 п.н. во всех исследуемых образцах (рис. 24).

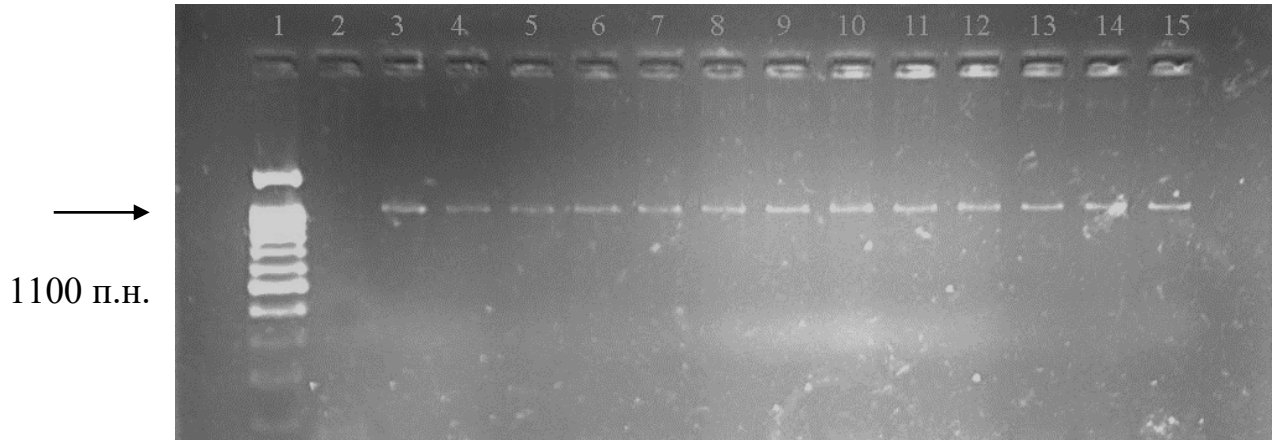


Рисунок 24. Электрофореграмма продуктов амплификации с использованием праймеров *FJ13/1* и *RJ13/2* к диагностическому маркёру, сцепленному с геном *Lr*9. 1-маркёр длины; 2-Аврора; 3- линия TcLr9; 4 -15 – образцы *Ae. umbellulatà*

ДНК 12 иммунных к листовой ржавчине (тип реакции - 0) образцов *Ae. speltoides* различных эколого-географических групп анализировали с помощью ДНК-маркеров, сцепленных с генами *Lr28, Lr35, Lr47, Lr51* и *Sr39*.

Наличие маркера BCD260F135R2, сцепленного с геном *Lr35*, идентифицировали у всех исследуемых образцов (рис. 25).

Наличие маркёра PS10, сцепленного с геном *Lr47*, было выявлено в образцах s-3256 и s-1000 (рис. 26).

Пять образцов *Ae. speltoides*: s-2274, s-2716, 2717, C4, C5 несли маркер AGA7-759 S30, сцепленный с геном *Lr51* с (рис. 27).

Маркер CS421570 сцепленный с геном *Lr28* выявлен во всех изучаемых образцах *Ae. speltoides* (рис. 29).

Наличие маркера 16-S13, сцепленного с геном *Lr66*, установлено у всех образцов *Ae. speltoides* за исключением 1595 (рис. 29).

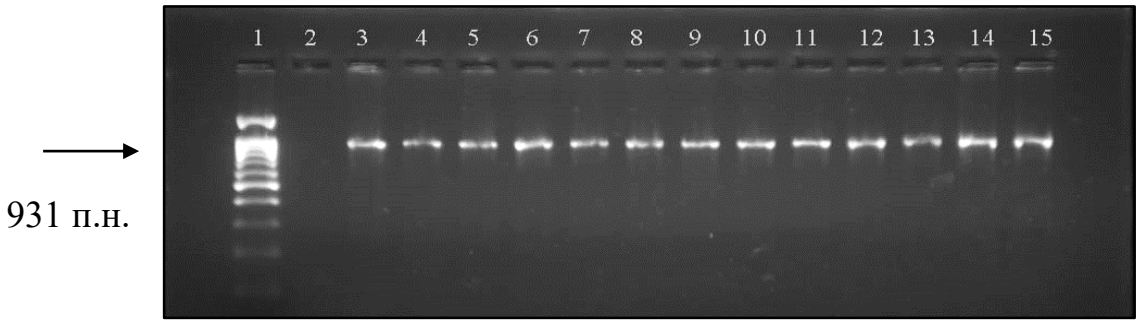


Рисунок 25. Электрофореграмма продуктов амплификации с использованием праймеров *BCD260F1* и *35R2* к диагностическому маркёру, сцепленному с геном *Lr35*. 1 – маркёр длины; 2 –Аврора, 3 - линия TcLr35; 4-15 – образцы *Ae. speltoides*.

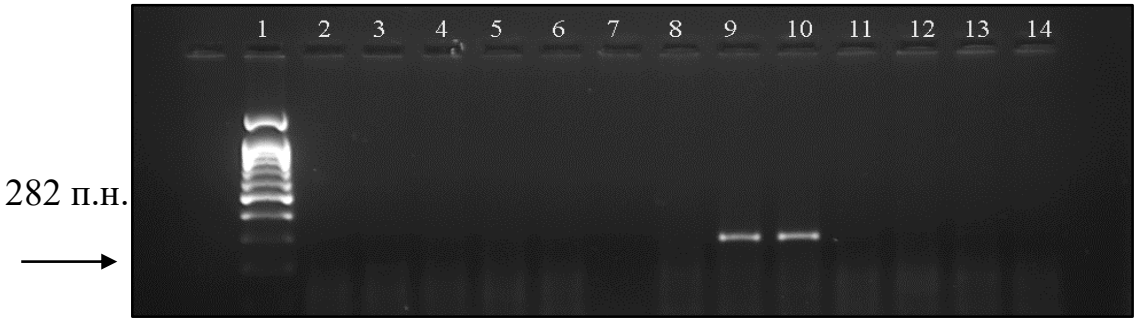


Рисунок 26. Электрофореграмма продуктов амплификации с использованием праймеров *PS10R* и *PS10L* к диагностическому маркёру, сцепленному с геном *Lr47*. 1 – маркёр длины; 2 – Аврора, 3-14 – образцы *Ae. speltoides* (9 - образец 3256; 10 - образец 1000).

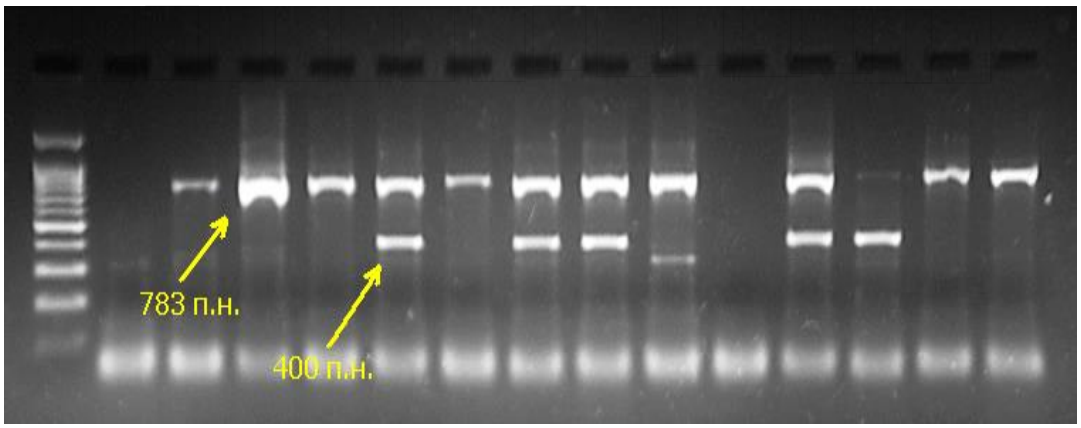


Рисунок 27. Электрофореграмма продуктов рестрикции *PST1* амплифицированных фрагментов, полученных с использованием праймеров *S30BL, AGA7-759R* к маркеру, сцепленному с геном устойчивости *Lr51*. 1 – маркёр длины; 2 –Аврора; 3 - Кавказ; 4-15 – образцы *Ae. speltoides*.

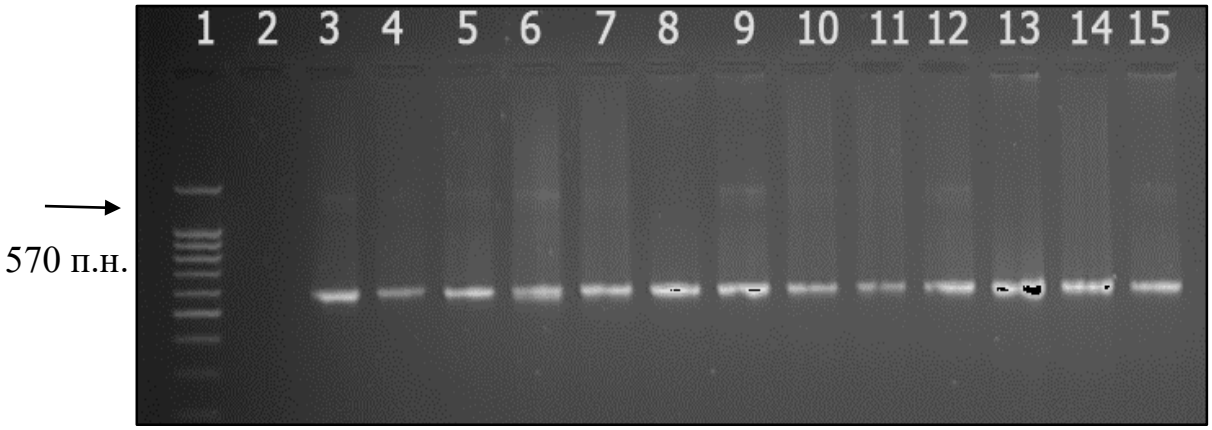


Рисунок 28. Электрофореграмма продуктов амплификации с использованием праймеров *CS421570-F* и *CS421570-R* к диагностическому маркеру, сцепленному с геном *Lr28*. 1 – маркёр длины; 2 –Аврора, 3 - линия TcLr28; 4-15 – образцы *Ae. speltoides*.

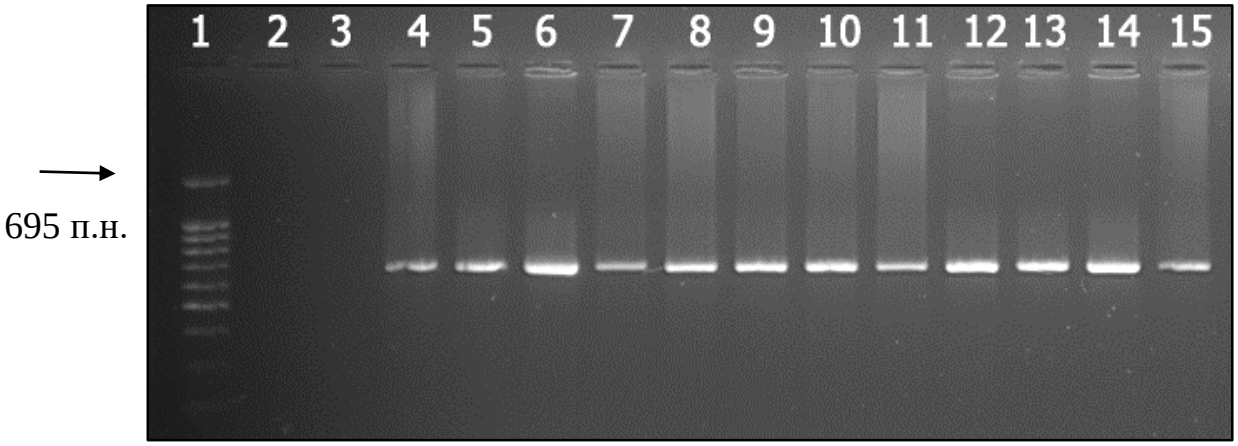


Рисунок 29. Электрофореграмма продуктов амплификации с использованием праймеров *16-S13F* и *16-S13R* к диагностическому маркеру, сцепленному с геном *Lr66*. 1 – маркер длины; 2 –Аврора, 3 – образец 1595; 4-15 – образцы *Ae. speltoides*.

Двадцать два образца *Ae. tauschii* были проанализированы на присутствие генов устойчивости к листовой ржавчине *Lr39*, *Lr21* и *Lr32*. Маркеры, сцепленные с генами *Lr21* и *Lr32*, не были обнаружены. Характеристика образцов по устойчивости к листовой ржавчине и наличию маркера *GDM35*, сцепленного с геном *Lr39*, приведена в таблице 34.

Таблица 34. Оценка образцов *Ae. tauschii* по устойчивости к листовой ржавчине и наличию у них маркера *GDM35*, сцепленного с геном *Lr39*, 2012 г.

Образец	Тип реакции в баллах	Наличие маркера *GDM35*, сцепленного с *Lr39*	Образец	Тип реакции в баллах	Наличие маркера *GDM35* сцепленного с *Lr39*
t-2423	1	+	t-3196	0	+
t-3186	01	+	t-3197	0	+
t-3187	0	+	t-3198	1	+
t-3188	0	+	t-3199	01	+
t-3189	0	+	t-1354	1	+
t-3190	0	+	t-1356	1	+
t-3191	01	+	t-2464	3	-
t-3192	01	+	t-2603	3	-
t-3193	0	+	t-3179	2	-
t-3194	01	+	t-3184	2	-
t-3195	1	+	t-1361	4	-

Специфичный для гена *Lr39* фрагмент амплификации был детектирован в 15 образцах: t-2423, t-3186, t-3187, t-3188, t-3189, t-3190, t-3191, t-3192, t-3193, t-3194, t-3195, t-3196, t-3197, t-3198, t-3199, t-1354, t-1356. Все образцы, в которых идентифицирован маркер *GDM35*, проявляют высокую устойчивость к листовой ржавчине. В устойчивых образцах t-3179 и t-3184, как и в восприимчивых t-2464, t-2603 и t-1361, маркер, сцепленный с искомым геном, не был идентифицирован.

Синтетические формы Авролата, Авродес и *T. miguschovae* служили в качестве «генетических мостиков» при передаче ценных признаков от дикорастущих видов в изучаемые линии. Таким образом, они могут нести гены устойчивости к листовой ржавчине, переданные от дикорастущих видов. Предположительно, синтетическая форма Авролата может нести ген *Lr9*, переданный от *Ae. umbellulatà*. Гены *Lr28, Lr35, Lr47, Lr51* и *Lr66* от *Ae. speltoides* могут присутствовать в Авродес. *T. miguschovae* может нести гены *Lr21, Lr32, Lr39*, полученные от *Ae. tauschii* и *Lr50* от *T. militinae*.

Молекулярный анализ показал наличие маркера J13 сцепленного с геном *Lr9* в синтетической форме Авролата (рис. 30) (Давоян, 2012).

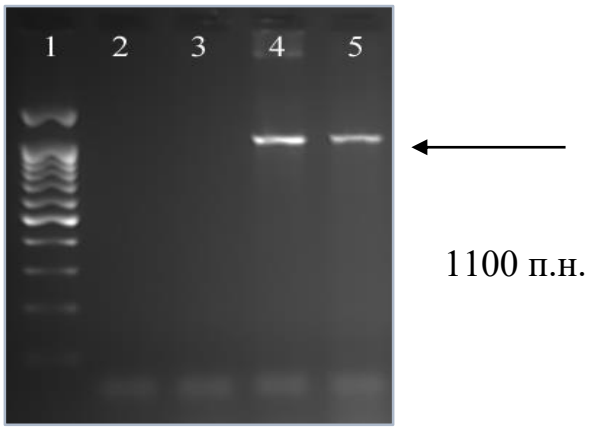


Рисунок 30. Электрофореграмма продуктов амплификации с использованием праймеров *FJ13/1* и *RJ13/2* к диагностическому маркеру, сцепленному с геном *Lr9* 1 – маркер длины 2 – Аврора, 3 – Безостая 1, 4 – TcLr9, 5- Авролата.

У Авродес обнаружены ДНК-маркеры, сцепленные с генами *Lr35*(*Sr39)*, *Lr28* и *Lr51* (рис. 31а, 31б, 31в, соответственно). В тоже время, маркеров PS10 и 16-S13, сцепленных с генами *Lr47* и *Lr66* соответственно, у этой формы не выявлено (рис. 31 г, д). В синтетической форме *T. miguschovae* выявлен маркер *GDM-35*, сцепленный с геном *Lr39* (рис. 32а). Диагностические продукты амплификации для маркеров Lr21F/R, специфичного для гена *Lr21*, а также BARC135, сцепленного с геном *Lr32*, выявлены в положительных контролях – линиях TcLr21 и TcLr32 соответственно. В синтетической форме *T. miguschovae* их наличие не установлено (рис. 32 б, в) (Давоян, 2018).

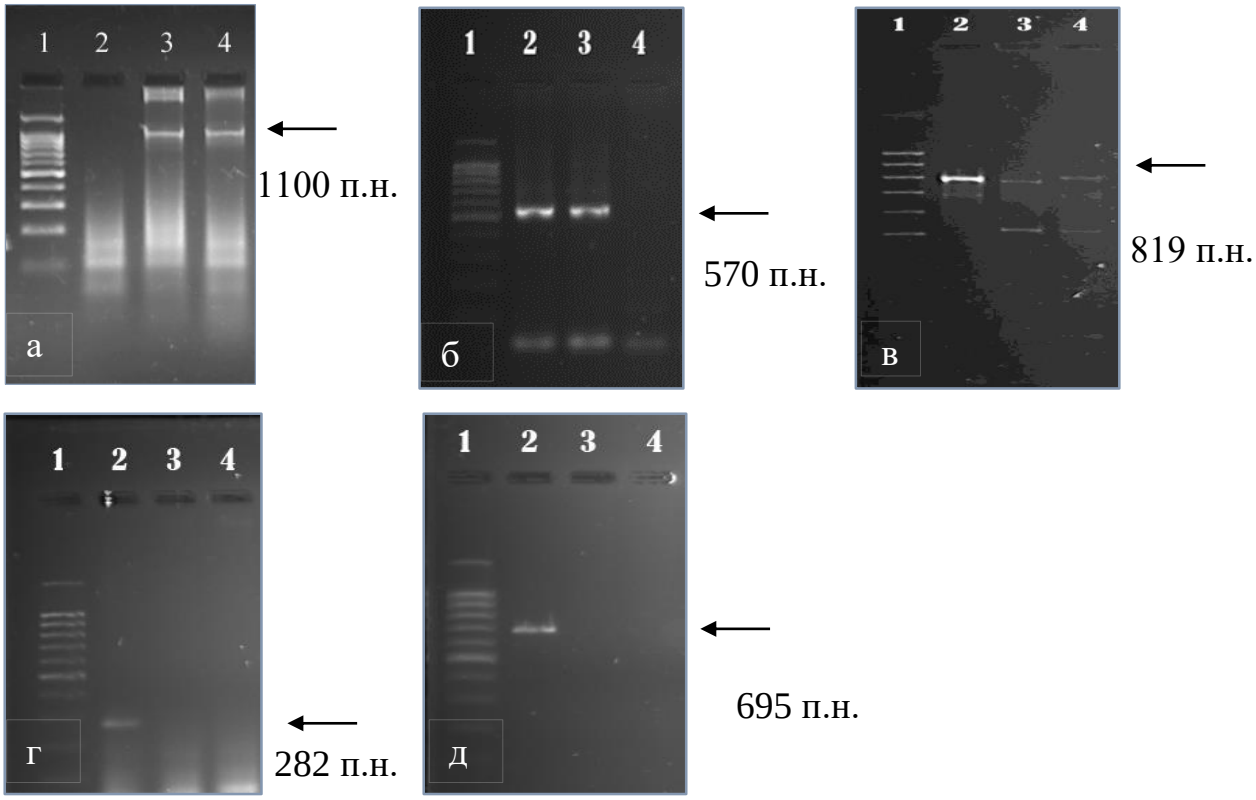


Рисунок 31. Электрофореграмма продуктов амплификации с использованием праймеров к диагностическим маркерам, сцепленным с генами: а) *Lr35* 1 – маркер длины, 2 – Аврора, 3 – TcLr35, 4 – Авродес; б) *Lr28* 1 – маркер длины, 2 – TcLr28, 3 – Авродес, 4 – Аврора; в) *Lr51* 1 – маркер длины 2 – Авродес 3 – Аврора, 4 – Кавказ; г) *Lr47* 1 – маркер длины, 2 – TcLr47, 3 – Авродес, 4 – Аврора; д) *Lr66* 1 – маркер длины, 2 – TcLr66, 3 – Авродес, 4 – Аврора.

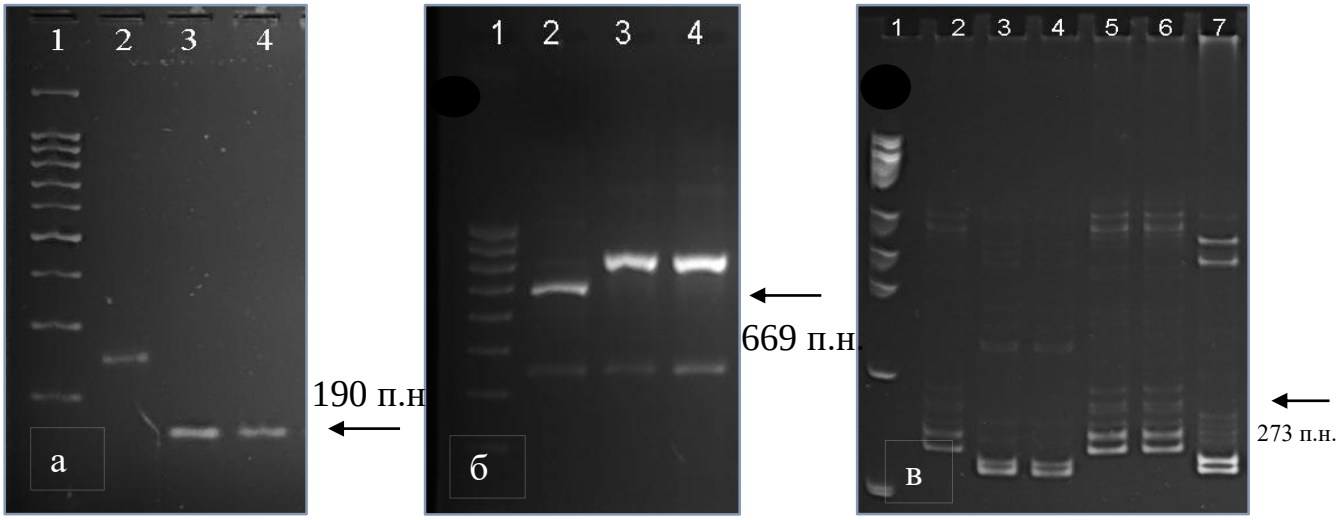


Рисунок 32. Электрофореграмма продуктов амплификации с использованием праймеров к диагностическим маркерам, сцепленным с генами устойчивости к листовой ржавчине: а) *Lr39* 1 – маркер длины 2 – Аврора, 3 – TcLr39, 4 – *T. miguschovae*; б) *Lr21* 1 – маркер длины; 2 – линия TcLr21; 3 – сорт Кавказ; 4 – *T. migushovae*; в) *Lr32* 1 – маркер длины; 2, 5, 6 – линия TcLr32; 3 – Аврора, 4 – Кавказ, 7 – *T. migushovae*.

Основой для создания рекомбинантных синтетиков (RS1, RS6, RS7), применяемых в работе, являлась синтетическая форма Авродес. Это обусловлено тем, что данная форма несёт высокую устойчивость к болезням, отличается высоким содержанием белка, а также имеет способность стимулировать гомеологичную конъюгацию хромосом (Tsatsenco et al., 1993). От скрещивания Авродес с другими геномно-замещенными формами были получены синтетические формы (RS-формы), у которых геном A и B, происходят от мягкой пшеницы сорта Аврора, а третий геном сочетает хромосомы генома S от *Ae. speltoides* с хромосомами геномов других видов: (U) *Ae. umbellulata* форма RS7, (G) от *T. militinae,* в синтетической форме RS1 и (D) от *Ae. tauschii* в RS6 (Давоян и др., 2012).

Таким образом, рекомбинантные синтетические формы RS1, RS6 RS7 могут нести гены устойчивости к листовой ржавчине *Lr35*(*Sr39), Lr28* и *Lr51,* выявленные в Авродес, *Lr39,* идентифицированный в *T. miguschovae,* и *Lr9* от Авролата в случае формы RS7.

3.3.1.2. Идентификация ДНК-маркеров, сцепленных с генами устойчивости к листовой ржавчине *Lr9, Lr28, Lr35, Lr39, Lr50* и *Lr51,* в интрогрессивных линиях мягкой пшеницы

Проведен анализ 343 интрогрессивных линий мягкой пшеницы на присутствие маркеров, сцепленных с генами устойчивости к листовой ржавчине. Анализ проводили в зависимости от происхождения линий и данных, полученных при скрининге синтетических форм. В линиях, полученных с участием синтетической формы *T. miguschovae* (комбинации скрещивания МК, МБ, СМК, СМБ), а также с её участием (GS и SM) выявляли маркеры, сцепленные с генами *Lr39* и *Lr50*. В материале с Авродес (АА, АБ, КАБ, GS и SM) идентифицировали маркеры, сцепленные с генами *Lr35*(*Sr39), Lr28* и *Lr51*. В линиях комбинации SU проводили поиск маркера, сцепленного с геном *Lr9,* переданным от *Ae. umbellulatà*. У всех линий идентифицировали присутствие маркеров, сцепленных с генами *Lr10, Lr26, Lr34*, которые могли быть переданы от сортов-реципиентов Краснодарская 99, Кавказ и Безостая1 соответственно.

Молекулярный анализ линий, полученных с участием *T. miguschovae* выявил, что большинство из них несут утратившие эффективность гены устойчивости к листовой ржавчине *Lr26* (111 линий) и *Lr34* (99 линий), переданные от сортов-реципиентов Кавказ, Безостая1 соответственно (табл. 35).

Таблица 35. Количество линий мягкой пшеницы, полученных с участием *T. miguschovae* с выявленными ДНК-маркерами, сцепленными с генами устойчивости к листовой ржавчине

Комбинация скрещивания	Линий, шт	Количество линий с выявленными маркерами, сцепленными с генами *Lr*, шт.				
		Lr10	*Lr26*	*Lr34*	*Lr39*	*Lr50*
МК	44	-	30	-	-	3
МБ	29	-	-	16	-	1
СМК	35	5	27	21	-	-
СМБ	48	8	25	33	1	3
GS	34	2	17	20	12	12
SM	24	6	12	9	10	-
Всего линий с геном		21	111	99	23	19

Маркер csLV34, сцепленный с геном *Lr34*, выявлен в 33 линиях комбинации скрещивания СМБ, 21 - линии СМК, 20 линиях комбинации GS, а также в комбинациях МБ и SM - по 16 и 9 линий соответственно. Молекулярный маркер SCM9, разработанный для выявления транслокации 1BL.1RS, в состав которой входит ген *Lr26*, обнаружен во всех комбинациях скрещивания за исключением МБ. Максимальное число линий с данным геном отобрано в комбинации МК (30 линий), наименьшее - в комбинации SM (12 линий). Для выявления линий с геном *Lr10* применяли маркер *Lrk10*. Данный маркер идентифицирован в 8 линиях комбинации СМБ, 5 линиях комбинации СМК, в 6 линиях SM и в линиях GS/2, GS/3. Анализ на наличие гена *Lr39* выявил его присутствие в линии СМБ/30, 12 линиях комбинации скрещивания GS и в 10 линиях комбинации SM.

Отобраны линии, несущие ген *Lr50*: МК/11, МК/17, МК/18, МБ/6, СМБ/16, СМБ/37, СМБ/38. Наряду с этим, данный ген был обнаружен в 12 линиях комбинации GS. Гены *Lr39* и *Lr50* переданы в мягкую пшеницу от *Ae. tauschii* и *T. timopheevii* соответственно, поэтому присутствие их в изучаемых линиях может свидетельствовать о наличии генетического материала этих видов. Следует отметить, что гены *Lr39* и *Lr50* остаются эффективными в России (Zhemchuzhina, Kurkova, 2010). Наличие в линиях комбинации SM маркера J13, сцепленного с геном *Lr9*, не установлено.

В материале, полученном на основе Авродес, так же как, и в случае с *T. miguschovae*, большее число линий несёт гены *Lr10*, *Lr26* и *Lr34* (табл. 36). Так, в комбинации АБ, 21 линия имеет ген *Lr34*, полученный от сорта Безостая 1, а в комбинации АК, за счёт участия сорта Краснодарская 99 20 линий несут ген *Lr10*.

Таблица 36. Количество линий мягкой пшеницы, полученных с участием Авродес, с выявленными ДНК-маркерами, сцепленными с генами устойчивости к листовой ржавчине

Комбинация скрещивания	Линий, шт	Количество линий с выявленными маркерами, сцепленными с генами *Lr*, шт.					
		Lr10	*Lr26*	*Lr34*	*Lr28*	*Lr35*	*Lr51*
АА	21	-	11	-	-	-	-
АБ	24	-	11	21	1	-	2
АК	35	20	16	-	4	11	4
КАБ	12	7	5	6	-	2	-
GS	34	*	*	*	2	1	11
SM	24	*	*	*	3	-	1
SU	21	6	9	4	1	-	6
Всего линий с геном		36	52	31	11	14	24

*-описаны в таблице 44

Наличие гена *Lr26* установлено в комбинациях АА и АБ – по 11 линий, в АК у 16 линий, в КАБ – у 5 линий и в SU – у 9 линий. Следует отметить, что синтетическая форма Авродес получена на основе сорта Аврора и несёт ген *Lr26*. Соответственно, донором передачи данного гена в линии могли служить как сорт Аврора, так и форма Авродес. Маркер CS421570, применяемый для идентификации гена *Lr28*, обнаружен в линиях АБ/2, АК/7, АК/8, АК/14, АК/17, GS/3, GS/30, SM/9, SM/16, SM/18 и SU/14. Наибольшее число линий (всего 11) с геном *Lr35* выявлено в комбинации скрещивания АК. Также данный ген идентифицирован в линиях КАБ/9, КАБ/10 и GS/3. Ген *Lr51* выявлен во всех комбинациях скрещивания за исключением АА и КАБ. Наибольшие число линий с данным геном наблюдалось в комбинации GS и составило 11 линий.

В целом, в результате анализа линий по всем комбинациям скрещивания получены следующие результаты (рис. 33). У 73 линий анализируемых генов не было выявлено. Большинство линий (143) имеют единичное присутствие генов. 105 линий несут сочетание из двух генов устойчивости к листовой ржавчине. Комбинации из трёх и более генов устойчивости к листовой ржавчине выявлены в 27 линиях.

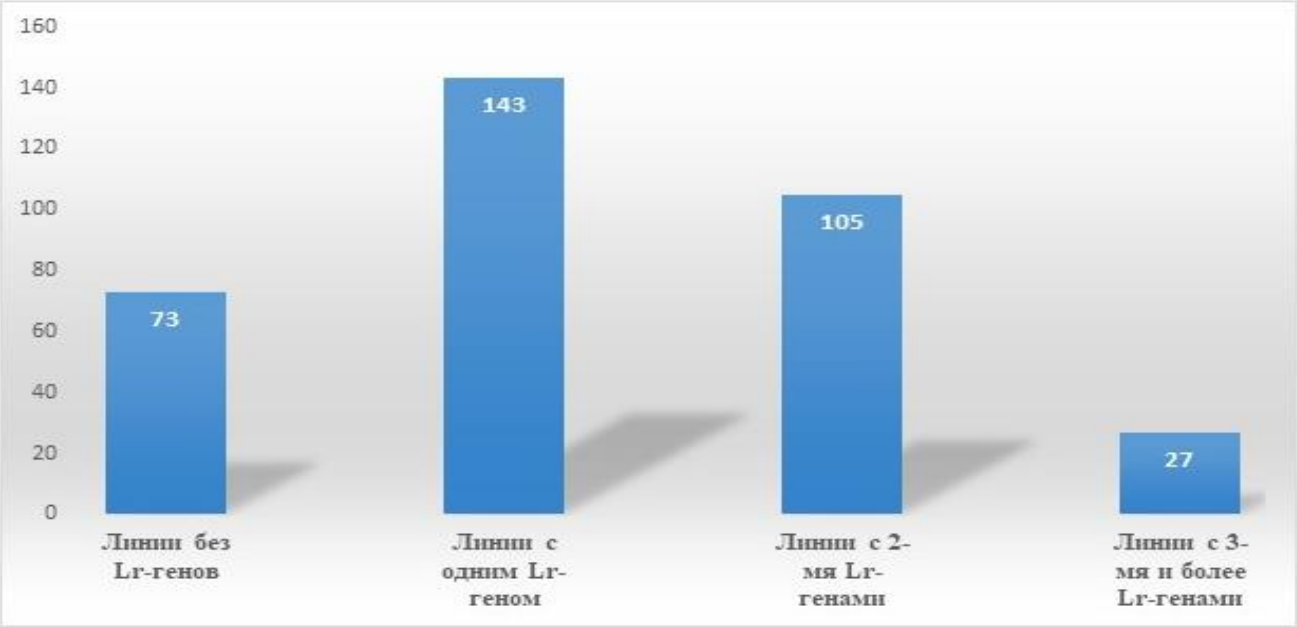


Рисунок 33. Количество линий с выявленными с помощью ДНК-маркеров *Lr*-генами

Линии, у которых были выявлены единичные *Lr*- гены, в основном несут утратившие эффективность гены *Lr26* и *Lr34* - 71 и 46 линий соответственно (рис. 34). При этом ген *Lr26* выявлен у 12 восприимчивых к листовой ржавчине линий, а ген *Lr34* у 5 линий. Единичное присутствие гена *Lr10* обнаружено в 11 устойчивых линиях. Отсутствие восприимчивых линий среди несущих утративший эффективность ген *Lr10* можно объяснить возможным присутствием других эффективных генов, отличных от такового.

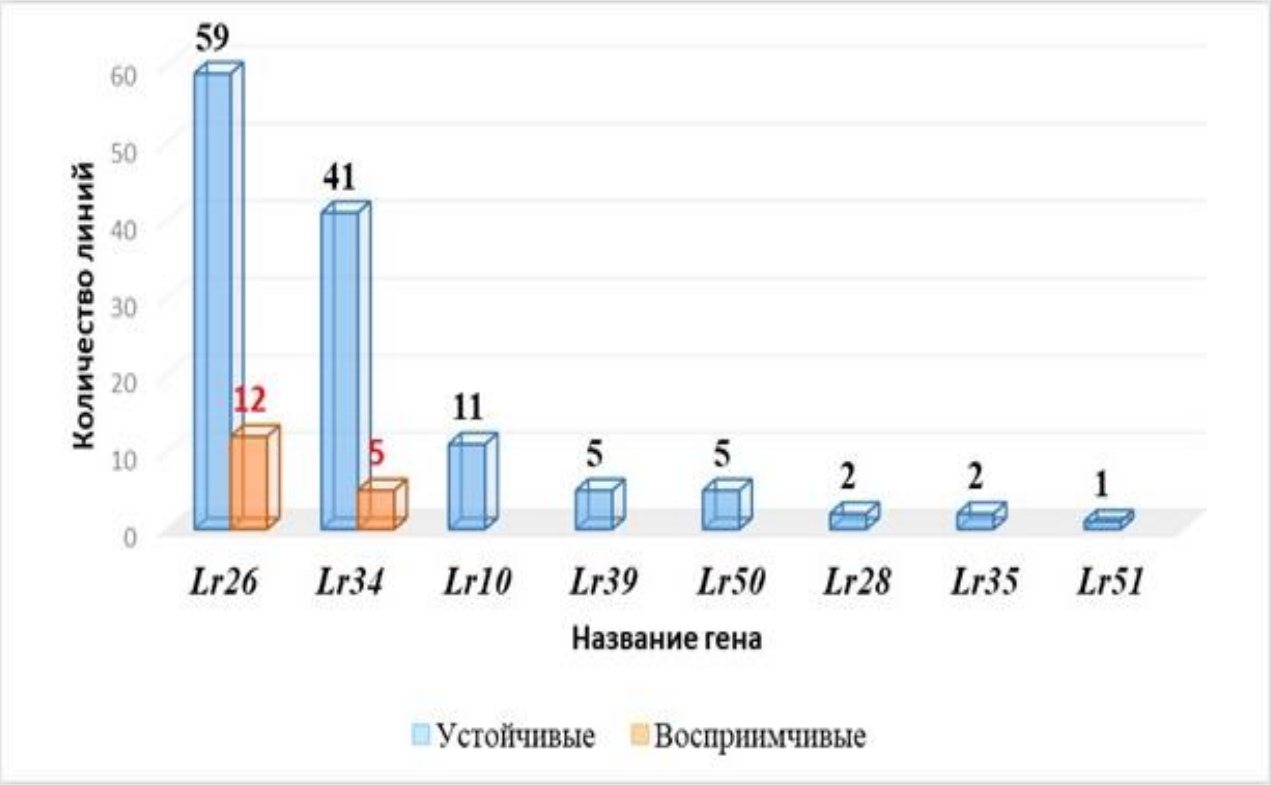


Рисунок 34. Количество линий мягкой пшеницы, несущих единичные гены устойчивости к листовой ржавчине.

В 5 устойчивых к листовой ржавчине линиях SM/4, SM/6, SM/8, SM/10 и SM/11 установлено присутствие только одного гена устойчивости *Lr39*. Сообщалось, что данный ген является высоко - эффективным к листовой ржавчине на всей территории России (Zhemchuzhina, Kurkova, 2010). По данным Е.И. Гультяевой (2012), *Lr39* перспективен среди группы высокоэффективных генов в России и рекомендован для использования в селекции на устойчивость пшеницы.

Можно предположить, что устойчивость в линиях SM/4, SM/6, SM/8, SM/10 и SM/11 обусловлена присутствием данного гена. Наличие гена *Lr50* выявлено в 5 устойчивых линиях МК/18, СМК/18, GS/30, GS/31 и GS/32. Как и в случае линий с геном *Lr39*, можно предположить, что устойчивость к листовой ржавчине в них обусловлена наличием гена *Lr50*. Высокоэффективный на территории России ген устойчивости *Lr28*, а также ген устойчивости взрослого растения *Lr35* обнаружены в линиях АК/4, АК/20, GS/29 и SU/14 соответственно. В линии SU12 идентифицировано присутствие гена *Lr51*. Таким образом, устойчивость в отобранных линиях, полученных с участием формы Авродес, может контролироваться за счёт единичного присутствие генов *Lr28, Lr35* и *Lr51*.

В ходе анализа выявлены 132 линии, которые содержат комбинации из двух и более генов устойчивости к листовой ржавчине. Из них 78 несут сочетание утративших эффективность к болезни генов *Lr10*, *Lr26*, *Lr34*, переданных от сортов-реципиентов. Сочетание генов *Lr26+Lr34* идентифицировано у 54 линий. Следует отметить, что данная комбинация генов наиболее часто встречается в изучаемом материале. Однако, в ходе фенотипической оценки выявлены линии АБ/10, АБ/12 и SM/15, которые несут данную комбинацию, но являются восприимчивыми к листовой ржавчине. Выявлены восприимчивые к болезни образцы среди линий, несущих сочетание генов *Lr10+Lr26* и *Lr10+Lr34*. Вероятно, что комбинации этих генов не способствуют проявлению устойчивости к патогену у образцов мягкой пшеницы в условиях Краснодарского края. Отобраны устойчивые к листовой ржавчине линии АА/36, СМБ/9, СМБ/35, СМБ/40 и СМБ/41 с комбинацией генов *Lr10+Lr26+Lr34*. Вероятно, наличие этих генов, обеспечивает защиту растений от болезни в условиях нашего региона. По данным Абловой И.Б. в условиях Краснодарского края хороший эффект по устойчивости к листовой ржавчине показывают комбинации генов *Lr26+Lr34* и *Lr10+Lr26+Lr34* (Аблова и др., 2014). Отобраны линии с сочетанием двух генов *Lr*, один из которых передан от дикорастущих видов *Ae. speltoides*, *Ae. tauschii* и *T. timopheevii* (табл. 37).

Таблица 37. Интрогрессивные линии мягкой пшеницы с выявленными комбинациями генов устойчивости к листовой ржавчине

Линия	Название линии
SM/18	*Lr10+Lr28*
АК/19, АК/21, АК/22	*Lr10+Lr35*
МК/34, SM/14	*Lr10+Lr39*
АК/6, SU/11, SU/16	*Lr10+Lr51*
АК/32, GS/33, GS/5, GS/6, SM/2, SM/3	*Lr26+Lr39*
МК/11, МК/17	*Lr26+Lr50*
АК/16, SU/8, SU/13	*Lr26+Lr51*
МБ/6, СМБ/37, СМБ/38, GS/19, GS/24	*Lr34+Lr50*
SU/10	*Lr34+Lr51*
А/2	*Lr28+Lr51*
АК/17	*Lr28+Lr35*
SM/9	*Lr28+Lr39*
GS/4, GS/14, GS/15, GS/21	*Lr26+Lr34+Lr39*
АК/31, SM/1	*Lr10+Lr26+Lr39*
АК/25, АК/26, АК/9	*Lr10+Lr26+Lr35*
АК/14	*Lr10+Lr26+Lr28*
GS/34	*Lr26+Lr34+Lr51*
КАБ/9	*Lr10+Lr34+Lr35*
GS/28	*Lr26+Lr34+Lr50,*
SM/16	*26+Lr28+Lr51,*
GS/26	*Lr34+Lr39+Lr50*
GS/2	*Lr10+Lr50+Lr51*
GS/3	*Lr10+Lr28+Lr35+Lr51*
GS/25	*Lr26+Lr34+Lr39+Lr50*
АК/11	*Lr10+Lr26+Lr35+Lr51*
АК/8	*Lr10+Lr26+Lr28+Lr35+Lr51*

Линия SM/18 имеет сочетание генов *Lr10+Lr28*. В линиях АК/19, АК/21 и АК/22 установлена комбинация генов *Lr10* и *Lr35*. Комбинация генов *Lr10+Lr39* обнаружена у линий АК/34 и SM/14. Линии АК/6, SU/11, SU/16 наряду с *Lr10* несут ген *Lr51*, переданный от синтетической формы Авродес. Комбинация из двух генов *Lr26* и *Lr39* выявлена в линиях АК/32, GS/33, GS/5, GS/6, SM/2, SM/3. Гены *Lr26+Lr50* идентифицированы в линии МК/11 и МК/17, а линии АК/16, SU/8, SU/13 несут комбинацию *Lr26+Lr51*. В линиях МБ/6, СМБ/37, СМБ/38, GS/19 и GS/24 выявлено сочетание генов *Lr34+Lr50*. Комбинация генов *Lr34+Lr51* установлена у линии SU/10. В линиях АБ/2 и АК/17 выявлены комбинации из двух генов, происходящих от *Ae. speltoides Lr28+Lr51* и *Lr28+Lr35* соответственно. Отобрана ценная для селекции на устойчивость линия SM/9, в которой идентифицировано наличие генов устойчивости к листовой ржавчине от двух разных видов: *Lr28* от *Ae. speltoides* и *Lr39* от *Ae. tauschii*.

Отобраны линии с комбинацией из трёх генов устойчивости к листовой ржавчине. Сочетание генов *Lr26+Lr34+Lr39* выявлено в линиях GS/4, GS/14, GS/15 и GS/21. Линии АК/31, SM/1 несут пирамиду генов *Lr10+Lr26+Lr39*. Наряду с генами *Lr10+Lr26* в линиях АК/9, АК/25, АК/26 присутствует ген *Lr35*, а в линии АК/14 ген *Lr28*. У линии GS/34 обнаружена комбинация генов *LR26+Lr34+Lr51*. Пирамиды генов *Lr10+Lr34+Lr35*, *Lr26+Lr34+Lr50*, *LR26+Lr28+Lr51*, *Lr34+Lr39+Lr50* и *Lr10+Lr50+Lr51* идентифицированы у линий КАБ/9, GS/2, GS/26, GS/28 и SM/16 соответственно.

Пирамиды из 4 генов устойчивости к листовой ржавчине выявлены у трёх линий. Линия GS.3, полученная с использованием синтетической формы RS1 (*T. miguschovae*/Авродес), несёт три гена – *Lr28*, *Lr35*, *Lr51*, переданных от Авродес, совместно с *Lr10*, переданным от сорта Краснодарская 99 (тип реакции 1). В линии АК/11, у которой тип реакции по годам варьировал от 01 до 1, выявлена комбинация генов *Lr10+Lr26+Lr35+Lr51*. В ходе изучения материала с помощью молекулярных маркеров отобрана линия АК/8 (тип реакции от 01 до 1), несущая пирамиду из 5 генов устойчивости к листовой ржавчине *Lr10+Lr26+Lr28+Lr35+Lr51*. В то же время аналогичная по происхождению

высокоустойчивая линия GS/25 (тип реакции 01), несёт пирамиду генов *Lr26+ Lr34+Lr39+Lr50,* в которой эффективные гены *Lr39* и *Lr50* переданы от *T. miguschovae*.

3.3.2. Изучение аллельных вариантов генов короткостебельности у интрогресивных линий мягкой пшеницы

Высота растений у мягкой пшеницы связана с наличием генов короткостебельности или карликовости (*Rht*), которые снижают высоту растений и обуславливают различный клеточный ответ на эндогенный растительный гормон гиббереллин. Согласно каталогу генов мягкой пшеницы (McIntosh, 2007) описано около 20 генов короткостебельности. Наиболее активно в селекционную практику вовлечены гены *Rht-B1b* (=*Rht-1*), *Rht-D1b* (=*Rht-2*), *Rht-B1e* (=*Rht-11*) и *Rht-8c* (=*Rht-8*). Важным условием для отбора доноров низкорослости, является понимание генетической природы признака «высота растений», что в свою очередь значительно облегчает и ускоряет селекцию на данный признак.

Ранее нами было показано, что по результатам оценки высоты растений линии были представлены двумя группами: низкорослые и среднерослые. Наряду с устойчивостью к комплексу болезней и цитологической стабильностью некоторые из них имеют меньшую высоту растений в сравнении с реципиентными сортами пшеницы. Предположительно они могут нести известные аллели генов *Rht*. Результаты, полученные при изучении интрогрессивных линий, синтетических форм, а также сортов реципиентов на наличие аллелей генов *Rht-1, Rht-2, Rht-11, Rht-8* представлены в таблице 38. В качестве контролей служили сорта мягкой пшеницы с известными аллелями: Афина и Юка аллель - *Rht-B1b*, Ласточка и Краснодарская 99 - *Rht-D1b*, Есаул - *Rht-B1e*, Гром - *Rht8*c.

Для определения наличия гена *Rht-1* использовали праймеры, созданные Ellis с соавторами (2002). Ими было показано, что мутантный аллель *Rht-B1b* этого гена, отличается от такового дикого типа одной парой нуклеотидов. Основываясь на этом различии, авторы разработали две пары праймеров: одна пара праймеров показывает присутствие аллеля дикого типа *Rht-B1a*, вторая – мутантного *Rht-B1b*.

Таблица 38. Характеристика интрогрессивных линий мягкой пшеницы по высоте и наличию аллелей генов *Rht1*, *Rht2*, *Rht-11*, *Rht-8*

Название линии, сорта, синтетической формы	Наличие аллелей генов *Rht*				Высота растений, см
	Rht-B1b (=*Rht-1*)	*Rht-D1b* (=*Rht-2*)	*Rht-B1e* (=*Rht-11*)	*Rht-8* (*Xgwm261*)	
МБ/30	-	*Rht-D1b*	-	192	82
МБ/31	-	-	-	192	110
МК/14	-	*Rht-D1b*	-	192	85
МК/30	*Rht-B1b*	-	-	-	90
СМБ/12	-	-	*Rht-B1e*	192	71
СМБ/29	-	-	*Rht-B1e*	192	90
СМБ/46	-	*Rht-D1b*	-	192	102
СМБ/49	-	-	*Rht-B1e*	192	76
СМК/4	-	-	*Rht-B1e*	-	68
СМК/8	-	*Rht-D1b*	-	192	86
СМК/12	-	-	-	192	84
СМК/25	*Rht-B1b*	-	-	192	62
СМК/36	*Rht-B1b*	-	-	192	94
АА/35	*Rht-B1b*	-	-	165 (154)	87
АК/19	Гетероз.	*Rht-D1b*	-	-	72
АК/28	-	*Rht-D1b*	-	-	92
АК/34	-	-	*Rht-B1e*	-	72
АК/31	-	*Rht-D1b*	-	192	85
КАБ/9	-	*Rht-D1b*	-	-	95
КАБ/11	-	*Rht-D1b*	-	-	84
GS/1	-	-	-	192	99
GS/19	-	-	*Rht-B1e*	192	74
GS/33	*Rht-B1b*	-	-	-	76
SM/2	-	-	*Rht-B1e*	-	83
SU/4	*Rht-B1b*	-	-	-	105
T. migushovae	*Rht-B1b*	н.а.	*Rht-B1e*	-	
Авродес, RS1, RS6, RS7	-	*Rht-D1b*	-	-	
Аврора	-	-	-	192	115
Безостая 1	-	-	-	192	99
Кавказ	-	-	-	192	117
Скифянка	-	-	*Rht-B1e*	192	88
Краснодарская 99		*Rht-D1b* *		192	88
Афина	*Rht-B1b*			174	107
Гром			*Rht-B1e*	192	86
Ласточка		*Rht-D1b*		212	110
$НСР_{05}$					2,78

* - по данным Дивашук и др. (2012)

Идентифицировать наличие того или иного аллеля можно только сопоставляя результаты двух реакций, причём в обоих случаях амплифицируемый фрагмент имеет размер 237 п.н. Результаты ПЦР, полученные при определении наличия дикого и мутантного аллелей представлены на рисунке 35. По итогам амплификации, по двум маркерам, мутантный аллель *Rht-B1b* был обнаружен в линиях МК/30, СМК/25, СМК/36, АА/35, GS/33, SU/4, синтетической форме *T. migushovae* и контрольном образце сорта Афина.

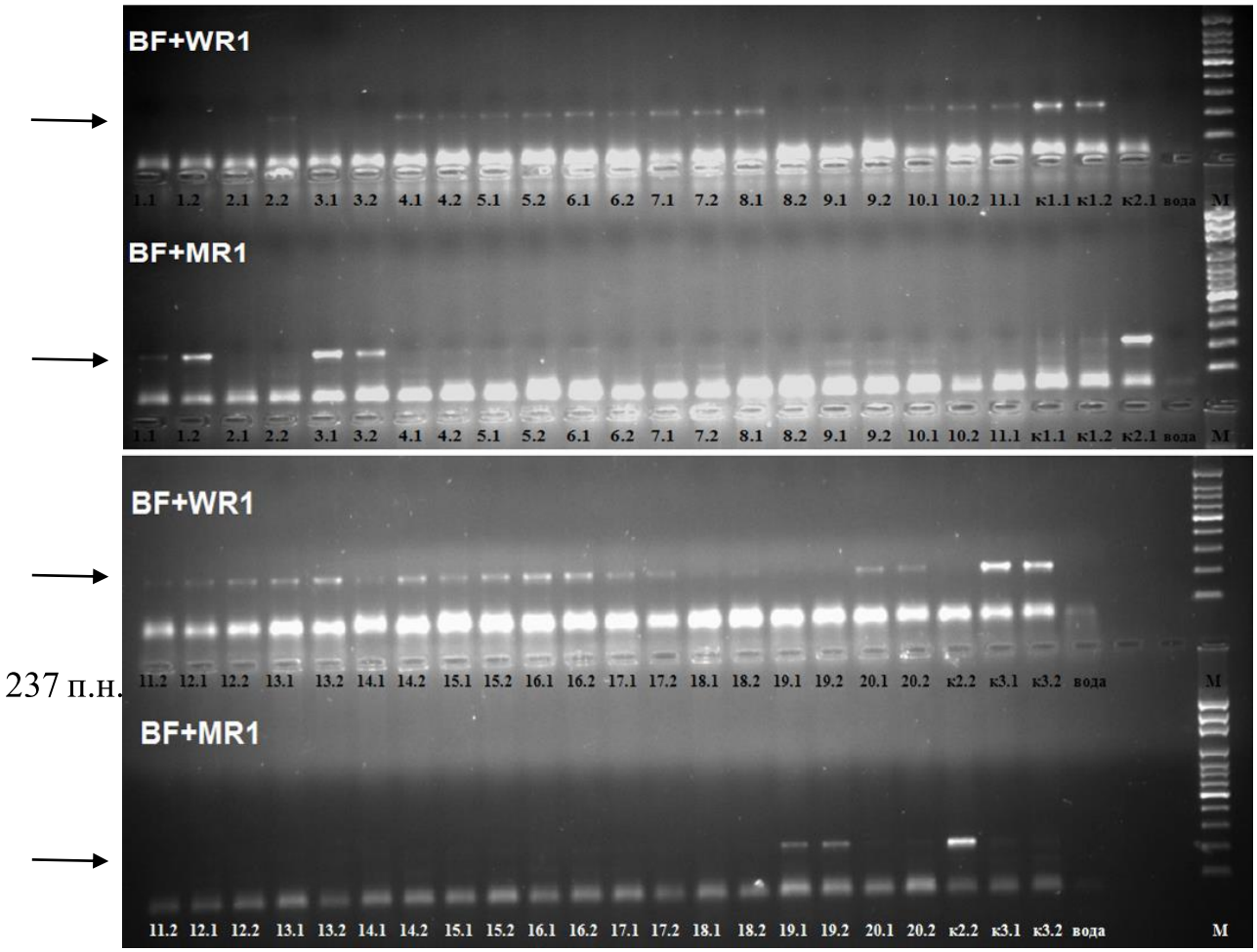
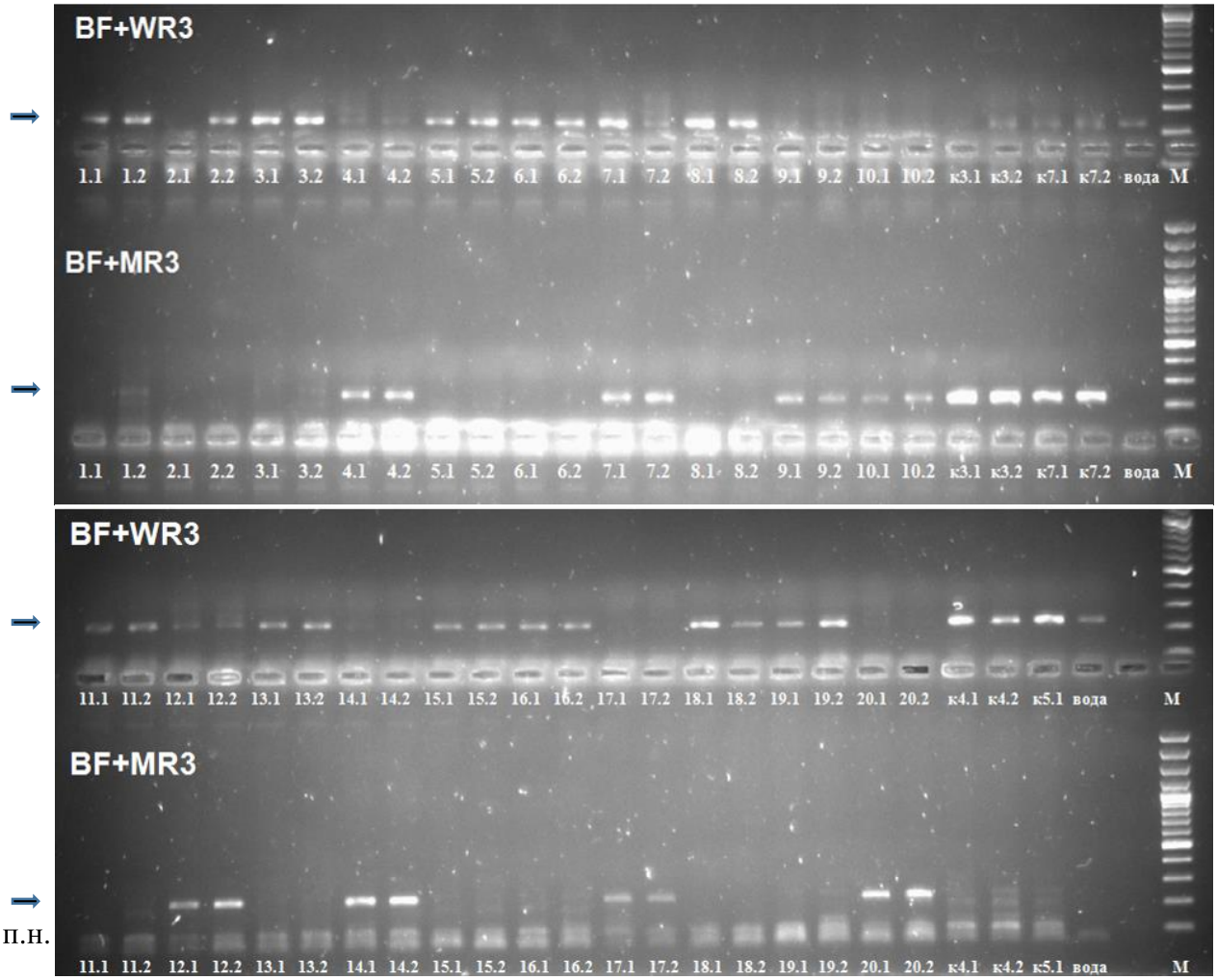


Рисунок 35. Электрофореграмма продуктов амплификации с использованием праймеров BF+WR1 и BF+MR1. Линии: 1 – АА/35; 2 – МБ/30; 3 – СМК/25; 4 – GS/19; 5 – МБ/31; 6 – МК/30; 7 – СМБ/12; 8 – GS/1; 9 – SM/2; 10 – СМК/4; 11 – СМК/8; 12 – СМК/12; 13 – МК/14; 14 – СМБ/29; 15 – АК/31; 16 – КАБ/11; 17 –

СМБ/48; 18 – СМБ/46; 19 – СМК/36; 20 – АК/34. Контрольные сорта: к1 - Краснодарская 99; к2 – Афина; к3 – Есаул; М – маркер молекулярного веса.

К настоящему времени известно два маркера для определения наличия аллеля *Rht-B1e*: BF+WR3 и BF+MR3 (Li, et al., 2012). При работе с ними, так же, как и в случае с праймерами на аллель *Rht-B1b*, требуется постановка двух реакций ПЦР. Фрагмент амплификации имеет размер 228 п.н. Аллель *Rht-B1e* был выявлен в линиях СМБ/12, СМБ/29, СМБ/49, СМК/4, АК/34, GS/19, SM/2, *T. migushovae*, положительном контроле сорте Гром и сорте-реципиенте Скифянка (рис. 36, табл. 38).



228 п.н.

Рисунок 36. Электрофореграмма продуктов амплификации с использованием праймеров BF+WR3 и BF+MR3. Линии: 1 – АА/35; 2 – МБ/30; 3 – СМК/25; 4 - GS1/9; 5 – МБ/31; 6 – МК/31; 7 – СМБ/12; 8 – GS/1; 9 – SM/2; 10 – СМК/4; 11 –

СМК/8; 12 – СМК/12; 13 – МК/14; 14 – СМБ/29; 15 – АК/31; 16 – КАБ/11; 17 – СМБ/48; 18 – СМБ/46; 19 – СМК/36; 20 – АК/34. Контрольные сорта: к4 – Ласточка; к5 – Юка. М – маркер молекулярного веса.

Праймеры DF+MR2 для идентификации гена *Rht-2*, разработаны Ellis с соавторами (2002). Они позволяют обнаруживать мутантный аллель *Rht-D1b* гена *Rht2*, при этом амплифицируемый фрагмент имеет размер 254 п.н. (рис.38). В результате применения этих праймеров аллель *Rht-D1b* был выявлен в линиях МБ/30, МК/14, СМБ/46, СМК/8, АК/19, АК/28, АК/31, КАБ/9, КАБ/11, в синтетических формах Авродес, RS1, RS6, RS7; в сорте-реципиенте Краснодарская 99 и контрольном образце Ласточка (табл. 37).

254 п.н.

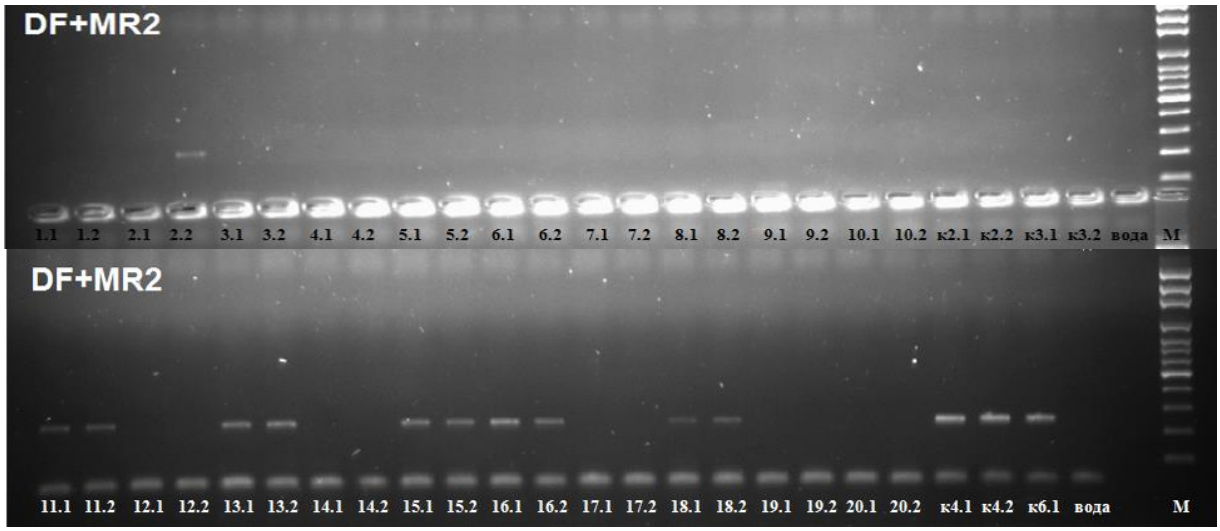


Рисунок 37. Электрофореграмма продуктов амплификации с использованием праймеров DF+MR2. Линии: 1 – АА/35; 2 – МБ/30; 3 – СМК/25; 4 – GS/19; 5 – МБ/31; 6 – МК/30; 7 – СМБ/12; 8 – GS/1; 9 – SM/2; 10 – СМК/4; 11 – СМК/8; 12 – СМК/12; 13 – МК/14; 14 – СМБ/29; 15 – АК/31; 16 – КАБ/11; 17 – СМБ/48; 18 – СМБ/46; 19 – СМК/36; 20 – АК/34. Контрольные сорта: к2 - Краснодарская 99; к3 – Есаул; к4 – Ласточка; к6 – Утриш. М – маркер молекулярного веса.

Korzun с соавторами (1998) установили тесную связь (0,6 сМ) между аллелем короткостебельности *Rht8*c и аллелем 192 п.н. микросателлитного локуса *Xgwm261*, расположенного на хромосоме 2DS. Всего выделяют 20 полиморфных аллелей этого микросателлита, но только фрагмент 192 п.н. является

диагностическим для идентификации *Rht8*c (Worland, 1998a; Li et al., 2012). Данный аллель выявлен в линиях МБ/30, МБ/31, МК/14, СМК/25, СМБ/12, СМБ/29, СМБ/46, СМБ/49, СМК/8, СМК/12, СМК/36, АК/31, GS/1, GS/19, а также в сортах Краснодарская 99, Аврора, Безостая1, Кавказ и Скифянка. На рисунке 38 представлен результат фрагментного анализа локуса *Xgwm261* размером 192 п.н., сцепленного с геном *Rht8* для линии СМК/8. В линиях МК/30, СМК/4, АК/19, АК/28, АК/34, КАБ/9, КАБ/11, GS/33, SM/2, SU/4, а также в синтетических формах *T. migushovae* Авродес, RS1, RS7 продукты амплификации с маркером *Xgwm261* не выявлены. Так как ген *Rht8* тесно сцеплен с геном *Ppd-D1*, определяющим фотопериодическую чувствительность гексаплоидных пшениц, и оба гена расположены на хромосоме 2D мягкой пшеницы, нами были проведены дополнительные исследования. Линии МК/30, СМК/4, АК/19, АК/28, АК/34, КАБ/9, КАБ/11, GS/33, SM/2, SU/4, у которых отсутствовала амплификация на маркере *Xgwm261*, были проанализированы на наличие гена *Ppd-D1*. В результате было выявлено отсутствие амплификации, что подтверждает данные, полученные с применением маркера *Xgwm261*. Это может быть связано с отсутствием 2D хромосомы мягкой пшеницы в результате замещения, либо с наличием хромосомы, отдаленной от 2D мягкой пшеницы.

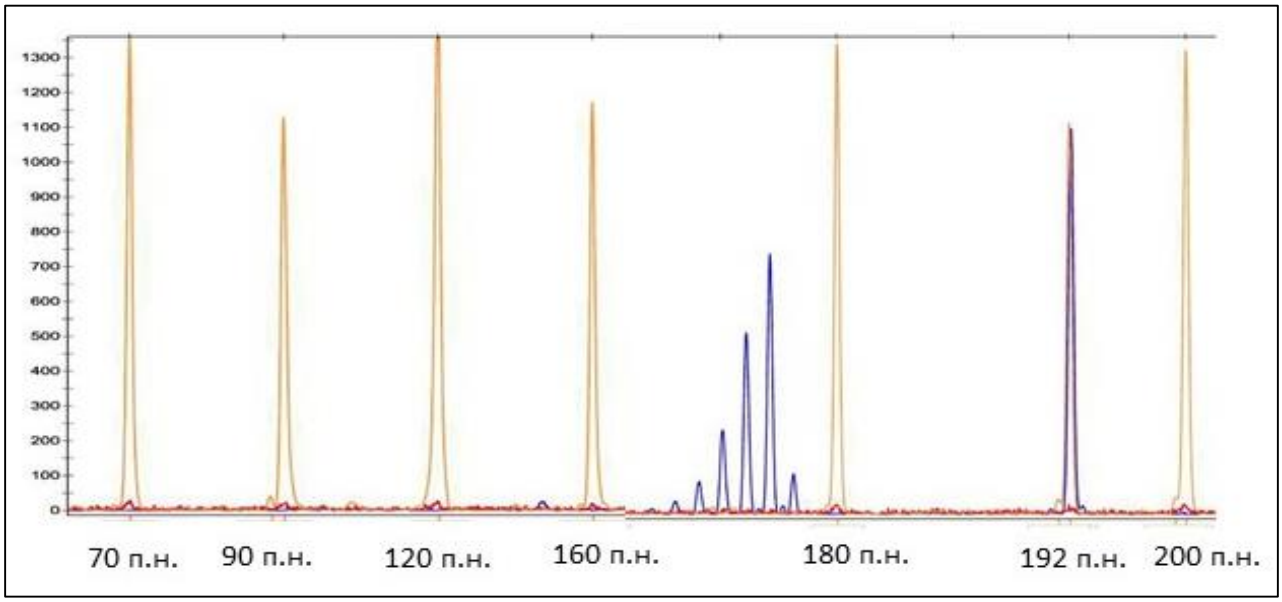


Рисунок 38. Фрагментный анализ микросателлитного локуса *Xgwm261* размером 192 п.н., сцепленного с геном *Rht8* у линии СМК/8.

Таким образом, с помощью ДНК- маркеров удалось определить различные аллельные состояния генов короткостебельности *Rht-8, Rht-B1* и *Rht-D1* в генотипах интрогрессивных линий. Выявлены линии, у которых идентифицированы как единичные аллели *Rht-B1b*, *Rht-B1e*, *Rht-D1b* и *Rht-8c*, так и их сочетания. Отобраны линии МБ/30, СМБ/46, СМК/8, АК/31, сочетающие аллели *Rht-D1b* и *Rht8c*, линии СМБ/12, СМБ/29, СМБ/48, GS/19 с комбинацией аллелей *Rht-B1e* и *Rht8c* и линии СМК/25, СМК/36 с выявленными аллелями *Rht-B1b* и *Rht8c*.

Гены короткостебельности могли быть переданы в линии как от сортов-реципиентов, так и от синтетических форм (Давоян, 2017). Так, аллель *Rht-D1b* гена *Rht2* передан в линии СМК8, СМБ46 от сорта Краснодарская 99, а в случае линий АК/19, АК/28, АК/31, МБ/30, КАБ/9 и КАБ/11 от Авродес. Выявлено семь линий, несущих аллель *Rht-B1e*. Следует отметить, что линии, несущие аллель *Rht-B1e*, за исключением СМБ/29 (90см), имели самую низкую высоту растений. По всей видимости этот аллель был передан в линии от сорта Скифянка, в тоже время он мог быть перенесён и от *T. migushovae*. Происхождение в линиях МК/30, СМК/25, СМК/36, GS/33 аллеля *Rht-B1b* обусловлено его присутствием в синтетической форме *T. migushovae*, однако наличие его в линиях АА/35 и SU/4 требует дальнейшего изучения, поскольку ни один из сортов-реципиентов его не несёт. Аллель гена *Rht8c* передан от сорта Безостая 1 в случае линий МБ/30 и МБ/31, от сорта Кавказ в линиях МК/14 и АК/31, от сортов Скифянка и Кавказ в линиях СМК/8, СМК/12 и СМК/25, от сортов Безостая 1 и Скифянка в линиях СМБ/12, СМБ/29, СМБ/36, СМБ/46 и СМБ/48. В линиях GS/1 и GS/19 аллель *Rht8c* мог быть передан от сортов Аврора и Гром. В линиях МК/30, СМК/4, КАБ/9, КАБ/11, АК/19, АК/28, АК/34, GS/33, SM/2, SU/4, а также в формах *T. migushovae* Авродес, RS1, RS7 отсутствовали продукты амплификации маркера *Xgwm261*. Вероятно, это связано с отсутствием хромосомы 2D мягкой пшеницы или её замещением на гомеологичную ей хромосому 2S от *Ae. speltoides* или 2D *Ae. tauschii*. Ген *Rht-8* тесно сцеплен с геном нечувствительности к фотопериоду *Ppd- D1*. Наличие доминантного аллеля *Ppd-D1a* снижает высоту растений на 10 см и ускоряет время

их цветения, уменьшая их жизненный цикл в среднем на неделю, в то время как аллель короткостебельности *Rht8c* снижает высоту лишь на 8 см и имеет минимальное плейотропное влияние на другие признаки (Worland, 1996).

Отобранные молекулярные маркеры могут успешно применяться в схемах MAS-селекции пшеницы для идентификации аллельных вариантов генов короткостебельности и отбора генотипов, несущих их.

3.3.3. Изучение интрогрессивных линий мягкой пшеницы по аллельным вариантам *Wx*-генов

Полиморфизм аллельных вариантов *Wx*-генов изучен для мягкой и твёрдой пшеницы (*T. dūrum*) (Rodrı'gez-Quijano et al., 1998; Yamamori et al., 1995). В результате стало возможным определять различные аллели *Wx*-генов, в том числе нуль-аллели, которые служили в качестве основы для селекционных программ, направленных на производство сортов пшеницы с модифицированным составом крахмала (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, что влияет на технологические свойства муки пшеницы и вкусовые качества конечной продукции.

В последнее время такие исследования проводятся и на дикорастущих сородичах мягкой пшеницы (Caballero et al., 2008a; Guzman et al., 2011). В этой связи большой интерес представляют виды рода *Aegilops*, такие как *Ae. tauschii* (DD) – донор D-генома мягкой пшеницы, *Ae. speltoides* (SS) – предполагаемый донор B-генома и другие, которые могут являться источниками новых аллелей *Wx*-генов с различной ферментативной активностью и имеют потенциал для увеличения генетического разнообразия пшеницы по данному признаку. Как было показано ранее, изучаемые нами линии несут в своём геноме генетический материал дикорастущих видов, переданный в форме транслокаций и замещения целых хромосом. Предположительно данные линии могут нести как известные, так и новые аллели *Wx*-генов.

С целью выявления мутантных аллелей *Wx*-генов, детерминирующих содержание амилопектина в крахмале зерна пшеницы, по аллельному состоянию генов *Wx-A1*, *Wx-B1* и *Wx-D1* были изучены следующие образцы: формы Авродес, *T. migushovae*, RS1, RS6, RS7; 39 интрогрессивных линий, полученных на их основе; сорта мягкой пшеницы Мироновская 808, Безостая 1, Аврора, Краснодарская 99, Восторг, Ростислав, Фишт (Davoyan *et. al.* 2019).

Для изучения образцов по аллельному состоянию гена *Wx-A1* применяли кодоминантный маркер, созданный Nakamura *et. al.* (2002), при использовании которого амплифицируются фрагменты со всех гомеологичных аллелей генов *Wx*. У генотипов, имеющих аллели дикого типа *Wx-A1a*, наблюдается амплификация двух фрагментов размерами 410 п.н. и 389 п.н., а у растений, несущих нуль-аллель *Wx-A1b*, - 410 п.н. и 370 п.н. (рис. 39).

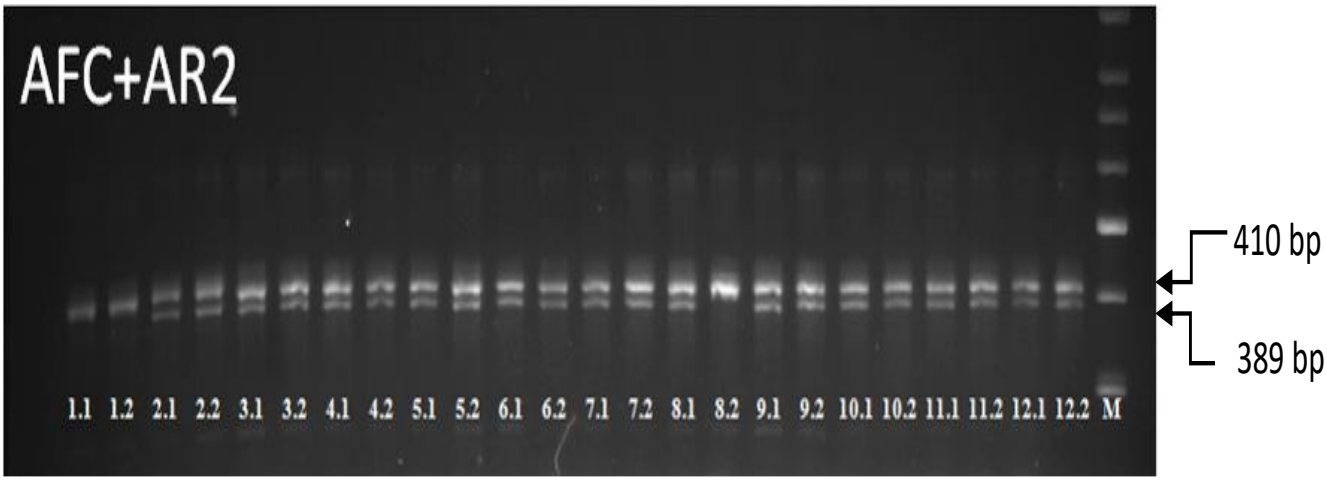


Рисунок 39. Электрофореграмма продуктов ПЦР с праймерами AFC и AR2: 1 – *T. miguschovae*; 2 – Авродес; 3 – МБ/1; 4 – СМБ/46; 5 – GS/32; 6 – GS/33; 7 – СМБ/48; 8 – GS/24; 9 – АБ/18; 10 – АА/21; 11 – МК/30; 12 – SU/14; М – маркер длины фрагментов ДНК.

В результате применения маркера AFC/AR2 у большинства исследуемых линий, синтетической форме Авродес, а также в сортах Мироновская 808, Безостая 1, Аврора, Восторг, Ростислав, Фишт был выявлен аллель дикого типа *Wx-A1a* (табл. 39). У линии GS/24 выявлена гетерогенность, в одной из повторностей отсутствует амплификация с А-генома (рис. 39). В линии АК/19 и у сорта

Краснодарская 99 отсутствовал фрагмент амплификации 410 п.н. У синтетической пшеницы *T. miguschovae* амплифицировался только 1 бенд 410 п.н. (рис. 39). Таким образом, можно предположить, что данная форма несёт чужеродный аллель, отличный от аллелей мягкой пшеницы.

Система молекулярного маркирования для гена *Wx-B1* была разработана McLauchlan с соавт. (2001). В результате её применения у растений пшеницы с аллелем дикого типа *Wx-B1a* амплифицируются три фрагмента ДНК размером 299 п.н., 255 п.н., 227 п.н., у форм с нуль-аллелем *Wx-B1b* – только два фрагмента, самый легкий фрагмент размером 227 п.н. отсутствует (рис. 40). С применением молекулярного маркера 4F/4R у большинства исследуемых линий был выявлен аллель дикого типа *Wx-B1a* (табл. 40). При анализе синтетической формы *T. miguschovae* размер фрагментов амплификации 299 п.н. и 255 п.н. совпадал с таковым у мягкой пшеницы, однако нижний фрагмент, амплифицируемый с генома B, отличался по размеру (рис. 40).

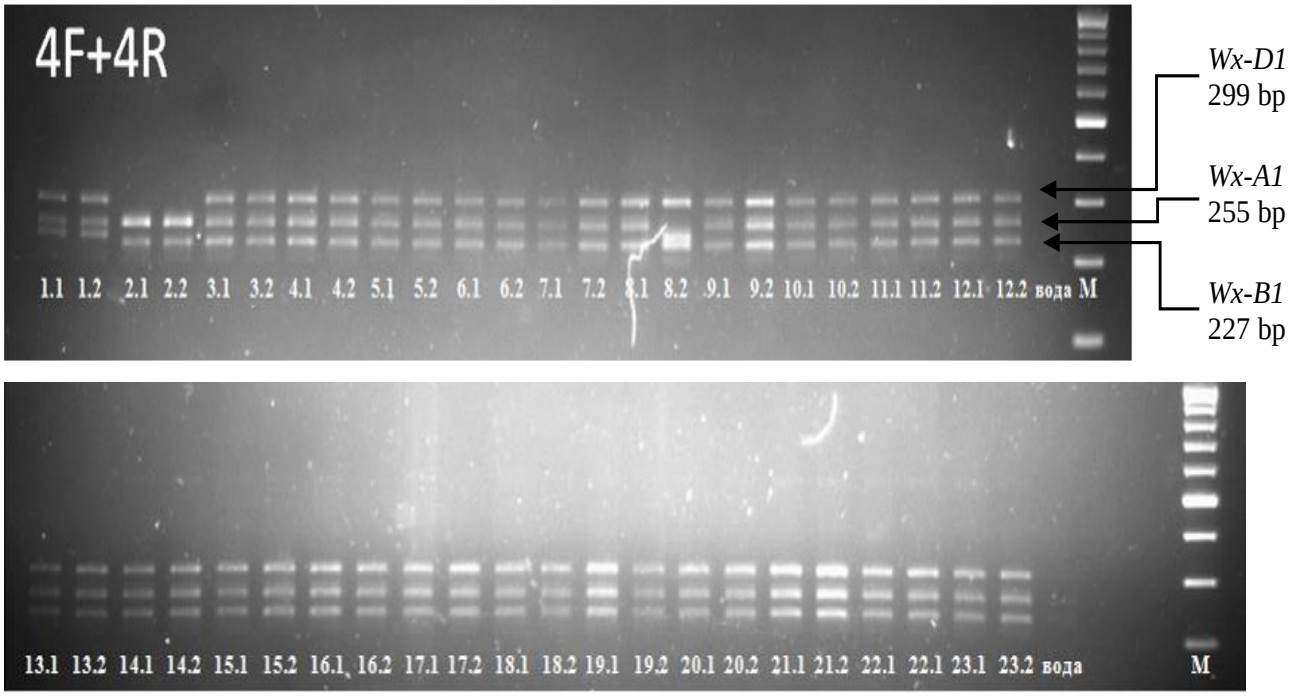
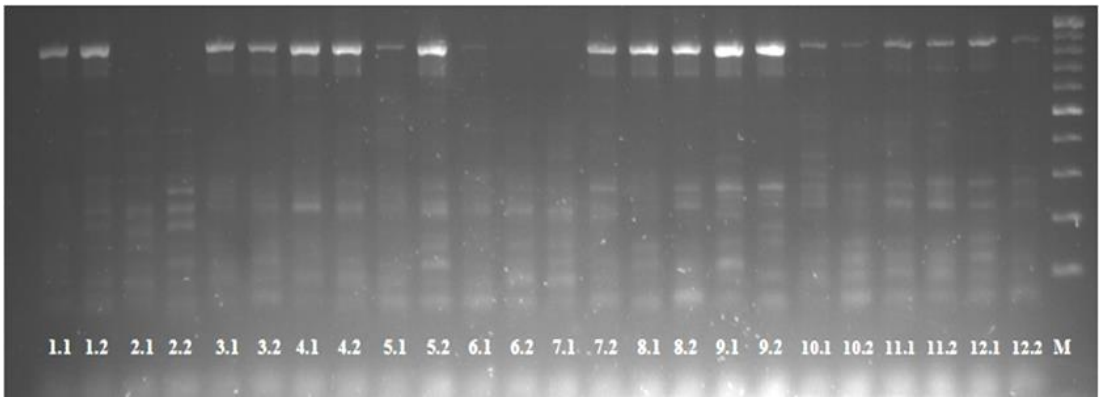


Рисунок 40. Электрофореграмма продуктов ПЦР с праймерами 4F и 4R: 1 – *T. miguschovae*; 2 – Авродес; 3 – МБ/1; 4 – СМБ/46; 5 – GS/32; 6 – GS/33; 7 – СМБ/48; 8 – GS/24; 9 – АБ/18; 10 – АА/21; 11 – МК/30; 12 – SU/14; 13 – Мироновская 808;

14 – Безостая 1; 15 – АК/32; 16 – АБ/11; 17 – КАБ/9; 18 – АА/35; 19 – АА/19; 20 – МК/39; 21 – АА/6; 22 – SU/4; 23 – АА/36; М – маркер длины фрагментов ДНК.

Эти данные сопоставимы с результатами, полученными при применении ДНК-маркеров, определяющих аллельное состояние гена *Wx-A*. Таким образом, у *T. miguschovae* аллель гена *Wx-B* отличается от такового у мягкой пшеницы и может иметь другое фенотипическое проявление на формирование крахмала. Линия GS.24 гетерогенна, как и при оценке на аллельное состояние *Wx-A1*, у повторности 8.2. (рис.41) отсутствует амплификация с А-генома, и выявлен фрагмент амплификации, отличающийся по размеру от фрагментов, характерных для аллеля *Wx-B1a* и от фрагмента, выявленного у *T. miguschovae*. В синтетической форме Авродес было выявлено отсутствие амплификации с D-генома (верхний бэнд 299 п.н. рис. 39). Аналогично Авродес амплификация с генома-D отсутствовала у синтетических форм RS1, RS6, RS7, у линий АК/19, АК/28, GS/1и у сорта Краснодарская 99. Причиной этого может быть, как отличие уэтих образцов гена *Wx-D*, так и отсутствие хромосомы 7D мягкой пшеницы.

Shariflou с соавт. (2001) разработали праймеры Wx-D1-2-F/Wx-D1-2-R, которые позволяют отличить аллели гена *Wx-D1*. При этом, в случае нуль-аллель амплифицируется фрагмент размером 279 п.н, а при аллеле дикого типа – 910 п.н. (рис. 41).



910 п.н.

Рисунок 41. Электрофореграмма продуктов ПЦР с праймерами Wx-D1-2-F/Wx-D1-2-R: 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.

Таблица 39. Характеристика образцов мягкой пшеницы по наличию аллелей *Wx*-генов.

Название образца	Выявленные аллели генов:		
	Wx-A1	*Wx-B1*	*Wx-D1*
МБ/1, МБ/26, МБ/30, МБ/32, МК/14, МК/30, МК/39, СМБ/12, СМБ/29, СМБ/46, СМБ/48, СМК/4, СМК/8, СМК/25, СМК/26, АА/2, АА/6, АА/19, АА/21, АА/35, АА/36, АБ/11, АБ/18, АК/32, КАБ/9, КАБ/11, GS/19, GS/32, GS/33, SM/2, SU/4, SU/14 Аврора, Безостая 1, Мироновская 808, Фишт, Восторг, Ростислав,	*Wx-A1a*	*Wx-B1a*	*Wx-D1a* (
Краснодарская 99	Отсутствует бэнд 410 п.н.	Отсутствует амплификация с D и A геномов	*Wx-D1a*
T. miguschovae	Нетипичный для мягкой пшеницы	Нетипичный для мягкой пшеницы	*Wx-D1a*
Авродес	*Wx-A1a*	Отсутствует амплификация с D генома	Отсутствует амплификация
RS1, RS6, RS7	*Wx-A1a*	Отсутствует амплификация с D генома	Отсутствует амплификация
Линия GS/24 (повт. 1)	*Wx-A1a*	*Wx-B1a*	*Wx-D1a*
Линия GS/24 (повт.2)	Нетипичный для мягкой пшеницы	Нетипичный для мягкой пшеницы	*Wx-D1a*
Линия GS/1	Отсутствует бэнд 410 п.н.	Отсутствует амплификация с D генома	*Wx-D1a*
Линия СМК/36	*Wx-A1a*	Отсутствует амплификация с A генома	*Wx-D1a*
Линия АК/19	Отсутствует бэнд 410 п.н.	Отсутствует амплификация с D генома	Отсутствует амплификация
Линия АК/28	*Wx-A1a*	Отсутствует амплификация с D генома	Отсутствует амплификация

У *T. miguschovae* и у большинства линий был выявлен фрагмент амплификации, характерный для присутствия аллеля дикого типа *Wx-D1a*. В Авродес, как и при применении маркеров для идентификации аллелей генов *Wx-A1*, *Wx-B1*, амплификация с D-генома отсутствовала.

В результате проведенной работы с помощью молекулярных маркеров выявлено, что у большинства изученных линий присутствуют типичные для мягкой пшеницы аллели дикого типа *Wx-A1a*, *Wx-B1a* и *Wx-D1a*. В случае линий, полученных с участием Авродес, аллели дикого типа *Wx-B1a* и *Wx-D1a* переданы от сортов-реципиентов, а аллель *Wx-A1a* мог быть передан как от сортов-реципиентов, так и от Авродес. В линиях, полученных с участием *T. miguschovae*, аллели *Wx-A1a*, *Wx-B1a* переданы от сортов-реципиентов.

Линия GS/24 оказалась гетерогенна. При оценке на аллельное состояние генов *Wx-A1* и *Wx-B1* у одних и тех же растений отсутствует амплификация с А-генома и выявляется дополнительный фрагмент, близкий по размеру к фрагменту амплификации на В-геноме, имеющий происхождение из *T. miguschovae*. Вероятно, в данном образце продолжается формообразовательный процесс. По всей видимости, у данной линии произошло замещение хромосомы 7А (отсутствие амплификации с А генома) на хромосому от *T. miguschovae* с локализованным на ней геном *Wx* (наличие дополнительного фрагмента амплификации). У синтетической формы *T. miguschovae* аллели генов *Wx-A1* и *Wx-B1* отличаются от таковых у мягкой пшеницы и могут иметь другое фенотипическое проявление на формирование крахмала. Таким образом, молекулярные маркеры, разработанные для выявления нулль-аллелей по генам *Wx*, также могут быть использованы для работы с частью аллелей генов *Wx* у образцов *T. migushovae* и Авродес, в том числе в маркер-опосредованной селекции. Синтетические формы *T. miguschovae*, Авродес, RS1, RS6 и RS7, а также линии СМК/36, АК/19, АК/28, GS/1 и GS/24, несущие аллели, отличные от дикого типа, представляют интерес для изучения полиморфизма аллельных вариантов *Wx*-генов и их влияния на технологические свойства муки и мукомольных изделий.

3.3.4. Изучение аллельного разнообразия генов *Vrn-1* и *Ppd-1* в интрогрессивных линиях мягкой пшеницы

Переход растения от вегетативной стадии к генеративной является одним из наиболее критических этапов в жизненном цикле растения. У злаковых продолжительность вегетативного периода определяется взаимодействующими системами генов ответа на яровизацию (*Vrn-1*, *Vrn-2*), ответа на фотопериод (*Ppd-1*, *PHYC*, *PHYBCO1*, *CO2*), которые запускают гены цветковых меристем: *Vrn-1* и *LFY2* посредством гена-интегратора *FT1* (Distelfeld et al., 2009; Chen et al., 2013). Центральными регуляторами фотопериодического ответа являются гены *Ppd-1* (Alqudah et al., 2014; Yang et al., 2014).

Следует отметить, что изучаемые интрогрессивные линии имели озимый тип развития и достаточные различия между собой по времени колошения. При этом считается, что время колошения гексаплоидной пшеницы, главным образом, зависит от генетических систем, генов *Vrn-1*, и генов *Ppd-1* (Worland, 1996).

3.3.4.1. Оценка аллельного разнообразия генов *Vrn-1* в интрогрессивных линиях мягкой пшеницы

Одной из причин различия линий по времени колошения могли быть гомеологичные гены *Vrn-A1*, *Vrn-B1*, *Vrn-D1*. Для определения аллельного состояния этих генов применялись эффективные ген-специфичные маркеры (Yan et al., 2004; Fu et al., 2005). Результаты использования пары праймеров VRN1AF/VRN1R к маркеру, сцепленному с геном *Vrn-A1*, были следующие. У всех образцов выявлен фрагмент амплификации 484 п.н., в то время как у *T. miguschovae* таковой составил около 450 п.н. (рис.42). 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 помимо фрагмента амплификации 484 п.н. идентифицирован фрагмент около 120 п.н., что может быть связано с интрогрессией чужеродного генетического материала.

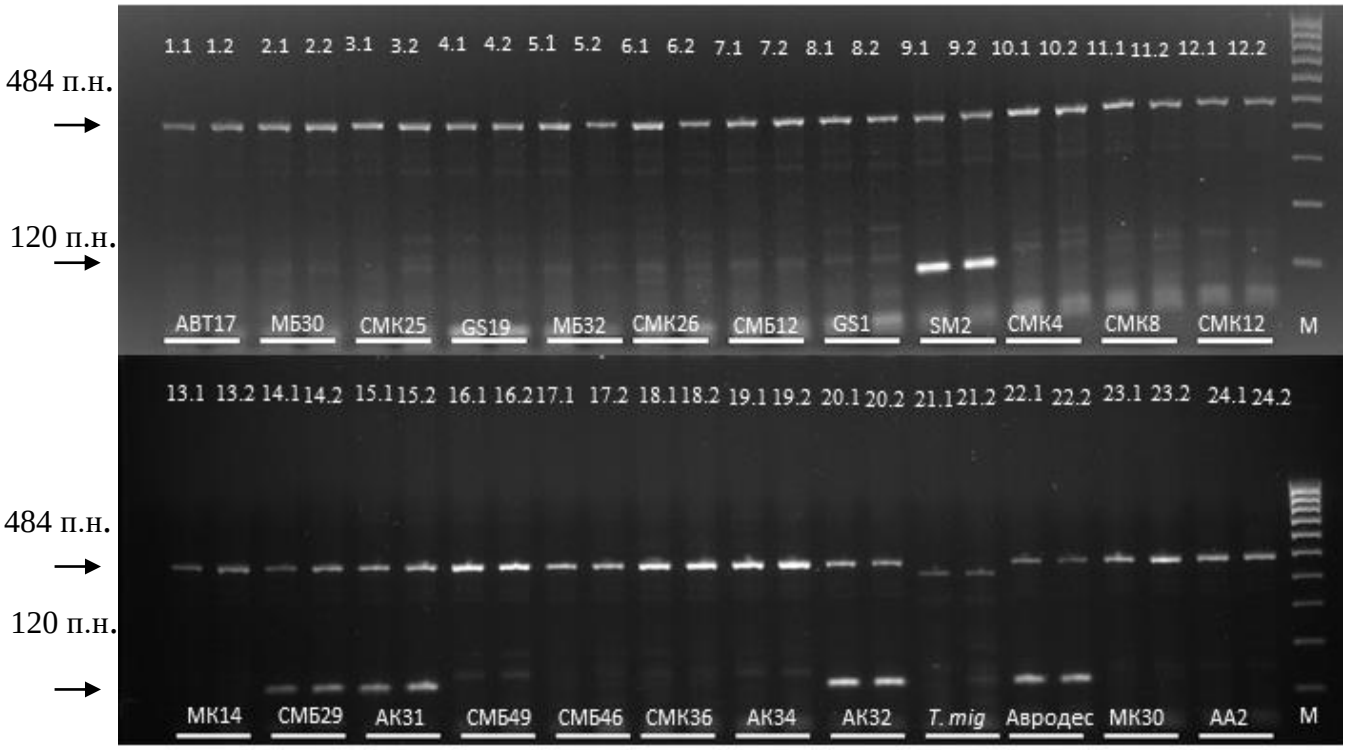


Рисунок 42. Электрофореграмма продуктов ПЦР с парой праймеров VRN1AF+VRN1R, сцепленных с геном *Vrn-A1*. M – маркер размеров DNA Ladder 100 bp. 1-20, 23-24 – интрогрессивные линии. 21 – *T. miguschovae*. 22 – Авродес.

В соответствии с данными, опубликованными Yan et al. (2004), в том случае, если в результате амплификации образуется фрагмент 484 п.н., его можно интерпретировать как аллель *Vrn-A1b* (озимый тип) или *Vrn-A1c* (яровой тип). Для того, чтобы проверить, какой именно аллель несут изучаемые линии, проведена ПЦР с парами праймеров Intr1/A/F2+Intr1/A/R3 (маркер ярового типа) и Intr1/C/F+Intr1/AB/R (маркер озимого типа) на родительских формах: сортах Краснодарская 99, Аврора, Безостая 1, синтетических формах Авродес и *T. miguschovae*. Предполагалось, что, если в одной из них будет выявлен фрагмент амплификации, отличный от других родительских форм, можно ожидать наличие такового и в производных линиях. Однако нами было показано, что у всех родительских форм кроме *T. miguschovae* отсутствует целевой бэнд, выявляемый Intr1/A/F2+Intr1/A/R3, и присутствует целевой бэнд от Intr1/C/F+Intr1/AB/R, что характеризует их как озимые формы (рис. 43). Синтетическая форма *T. miguschovae* ни в одном из вариантов не несла целевой бэнд.

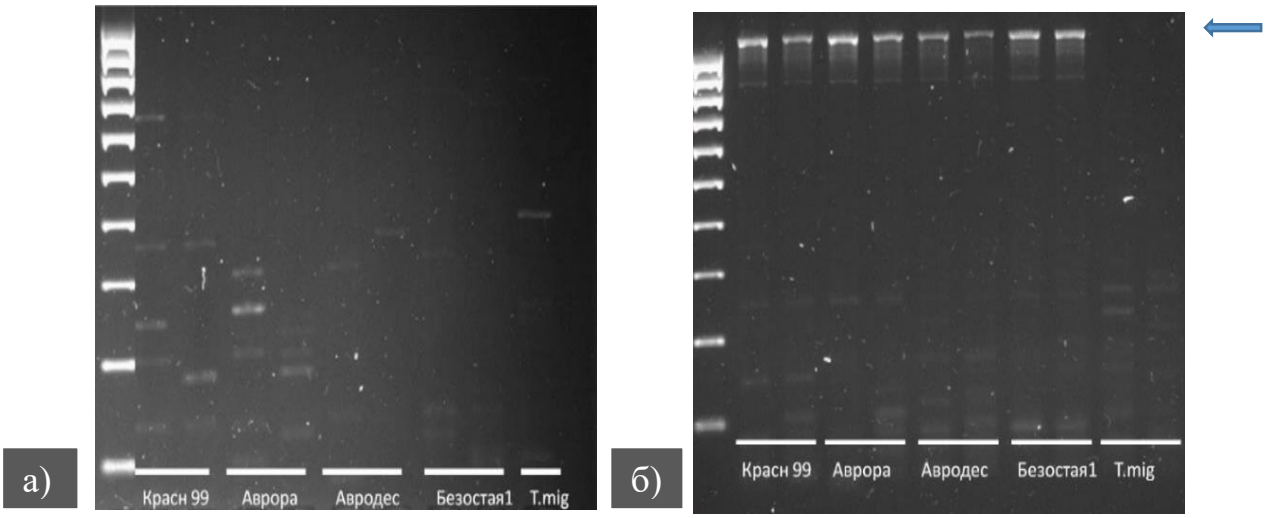


Рисунок 43. Электрофореграмма продуктов ПЦР с парой праймеров: а) Intr1/A/F2+Intr1/A/R3; б) Intr1/C/F+Intr1/AB/R

Для выявления аллелей гена *Vrn-B1* использовали аллель-специфичные праймеры, опубликованные D. Fu с соав. (2005). Предварительно нами была поставлена ПЦР с парой праймеров Intr/B/F+Intr1/B/R3, которая позволяет детектировать аллель ярового типа гена *Vrn-B1*. В качестве положительного контроля использовали сорт яровой мягкой пшеницы Новосибирская 67 с диагностическим фрагментом амплификации 709 п.н. В результате ПЦР с парой праймеров Intr/B/F+Intr1/B/R3 ни у одного из анализируемых образцов не было выявлено целевого бэнда 709 п.н., который соответствовал бы яровому типу (рис. 44).

Рисунок 44. Электрофореграмма продуктов ПЦР с парой праймеров Intr/B/F+Intr1/B/R3. M – маркер размеров DNA Ladder 100 bp

Для дальнейшей работы нами была использована пара праймеров Intr/B/F+Intr1/B/R4, которая позволяет детектировать аллель *Vrn-B1b* озимого типа. Результаты амплификации с данными праймерами представлены в таблице 40.

Таблица 40. Размеры фрагментов, полученных в результате ПЦР с праймерами Intr/B/F+Intr1/B/R4.

Название образца	Размер фрагмента ампл., п.н.	Название образца	Размер фрагмента ампл., п.н.	Название образца	Размер фрагмента ампл., п.н.
МБ/1	1149	СМК/36	1149	GS/19	1149
МБ/26	1149	АА/2	1149	GS/24	1149
МБ/30	1149	АА/6	1149	GS/32	1149
МБ/31	1149	АА/19	нет	GS/33	1149
МК/14	1149	АА/21	1149	SM/2	1149
МК/30	1149	АА/35	1149	SU/4	1149
МК/39	1149	АА/36	1149	SU/14	1149
СМБ/12	нет	АБ/11	1149	*T. miguschovae*	нет
СМБ/29	1149	АК/19	1149	Авродес	нет
СМБ/46	1149	АК/28	1149	RS1	1149
СМБ/48	1149	АК/31	1149	RS7	1149
СМК/4	нет	АК/32	1149	Аврора	1149
СМК/8	1149	АК/34	1149	Безостая1	1149
СМК/12	1149	КАБ/9	1149	Ростислав	1149
СМК/25	1149	КАБ/11	1149	Краснодар. 99	1149
СМК/26	1149	GS/1	нет	Фишт	1149

Большинство анализируемых образцов несут целевой фрагмент 1149 п.н. (озимый тип), исключениями являются *T. miguschovae*, Авродес и линии СМБ/12, СМК/4, АА/19, GS/1, в которых он не был выявлен. Отсутствие продукта

амплификации можно объяснить наличием неизвестного аллеля гена *VRN-B1*, нетипичного для мягкой пшеницы, который мог быть унаследован от *T. miguschovae* в линиях СМБ/12, СМК/4, и от Авродес в случае линий АА/19, GS/1. Данный аллель мог возникнуть путём хромосомных перестроек (транслокаций, замещений), при этом исходный ген пшеницы *Vrn-B1* оказался утрачен данными формами.

Для выявления аллелей гена *Vrn-D1* были отобраны аллель-специфичные праймеры, разработанные D. Fu с соав. (2005). В случае применения пары праймеров Intr/D/F+Intr1/D/R3 амплифицируется целевой фрагмент размером 1671 п.н, который указывает на яровой тип развития растения. В результате ПЦР с данными праймерами фрагменты размером 1671 п.н, не обнаружены, следовательно, образцов растений с яровым типом развития не выявлено. С применением праймеров Intr/D/F+Intr1/D/R4 у большинства образцов выявлен целевой фрагмент 997 п.н., соответствующий аллелю *Vrn-D1b*, который характеризуется озимым типом развития рисунок 45.

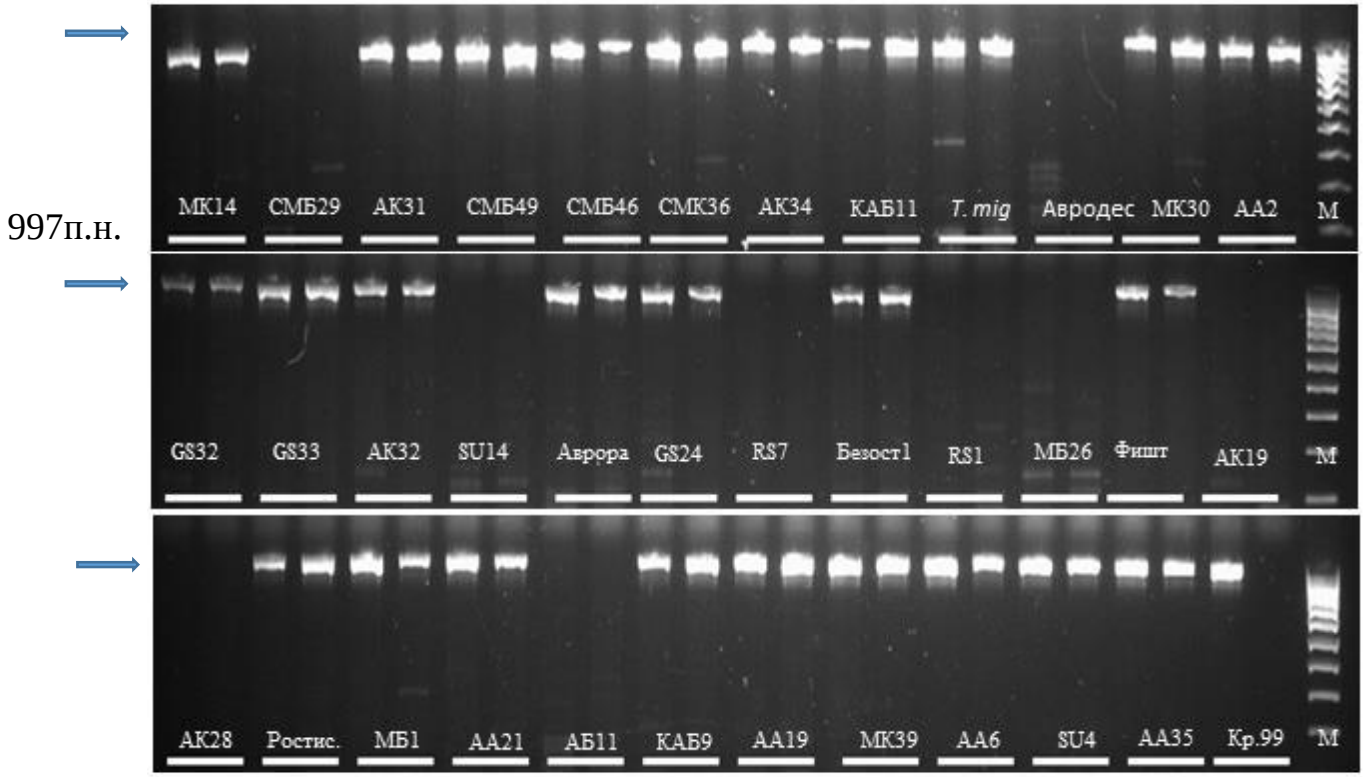


Рисунок 45. Электрофореграмма продуктов ПЦР с парой праймеров Intr/D/F+Intr1/D/R4. М – маркер размеров DNA Ladder 100 bp.

Исключение составили следующие 8 образцов: Авродес, RS7, МБ/26, СМБ/29, АК/19, АК/28, АБ/11, SU/14. Отсутствие продукта амплификации можно объяснить отсутствием хромосомы 5D или наличием неизвестного аллеля *VRN-D1* не пшеничного происхождения, который не маркируется используемыми праймерами. Данный аллель мог возникнуть в выявленных линиях путём хромосомных перестроек (транслокаций, замещений), при этом исходный ген пшеницы *VRN-D1* оказался утрачен данными формами.

3.3.4.2. Изучение аллельного состояния генов *Ppd-D1* у интрогрессивных линий мягкой пшеницы

Гены *Ppd*, отвечающие за чувствительность растения к длине дня (фотопериоду), играют важную роль при адаптации сортов пшеницы к разным агроклиматическим условиям. Впечатляющие результаты “зеленой революции” 60-х годов XX века были достигнуты, в том числе, благодаря переносу в создаваемые сорта новых аллелей генов нечувствительности к световому периоду (*Ppd*), что позволило значительно расширить ареал возделывания пшеницы (Borlaug, 1983).

Оценку линий на аллельное состояние гена *Ppd-D1* проводили с использованием праймеров, разработанных Beales с соавторами (2007). При работе с ними у образцов, несущих доминантный аллель, идентифицируется фрагмент амплификации 288 п.н., а в случае образцов с рецессивным аллелем – 414 п.н. 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, SU/4, а также у сортов Аврора, Фишт, Восторг, Безостая 1 выявлен доминантный аллель гена *Ppd-D1a* 288 п.н. (рис. 46). У синтетической формы *T. miguschovae*, в линиях МБ/26, СМК/26, АА/36, АБ/18, GS/24, и сорте мягкой пшеницы Мироновская 808 обнаружены фрагменты амплификации размером 414 п.н. (рецессивный аллель *Ppd-D1b*). В синтетических формах RS1, RS7 и линиях АК/19 и АК/28 выявлен нетипичный для мягкой пшеницы аллель, при этом амплифицировался фрагмент размером около 150 п.н.

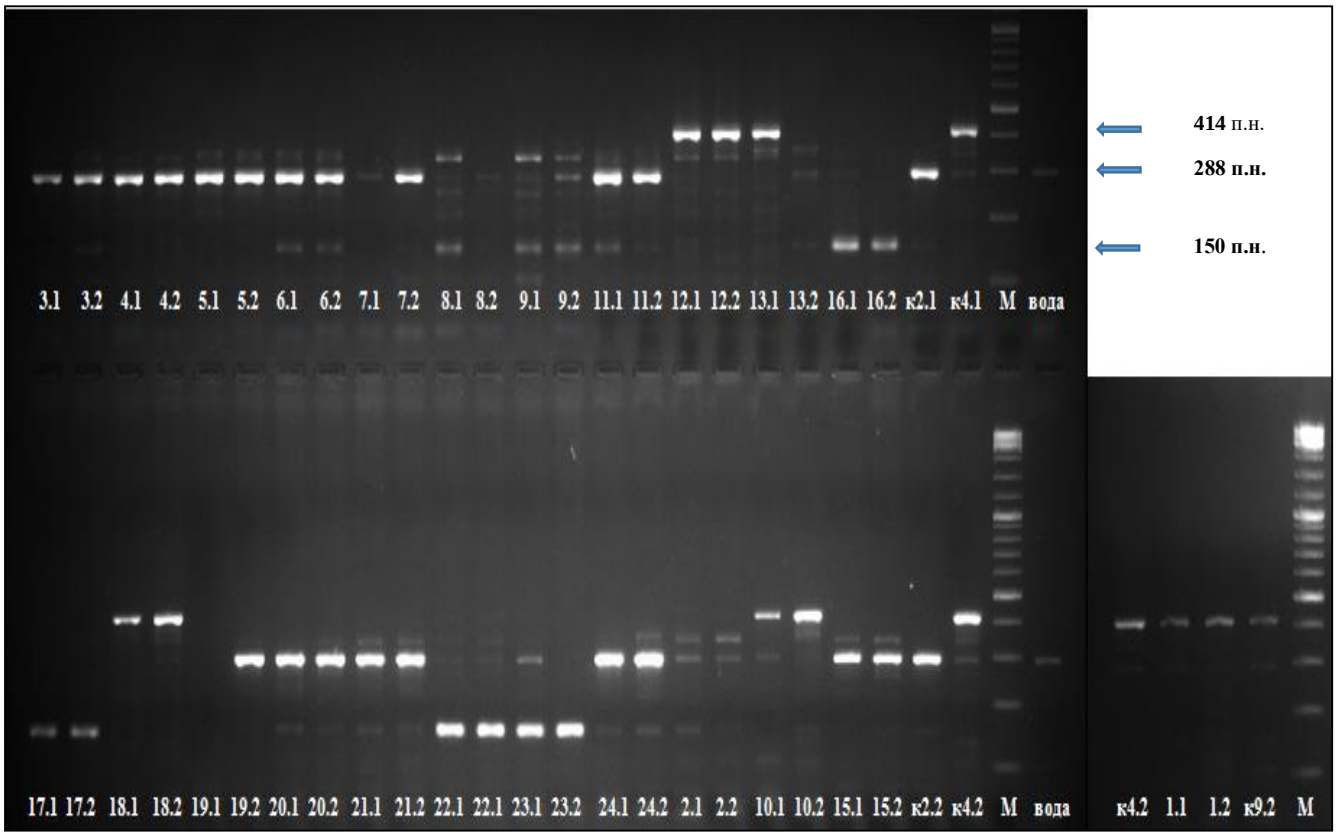


Рисунок 46. Электрофореграмма продуктов ПЦР с праймерами Ppd-D1 F/R (Beales et al., 2007): 1 – *T. miguschovae*; 2 – Авродес; 3 – МК/30; 4 – АА/2; 5 – СМБ/46; 6 – GS/32; 7 – GS/33; 8 – АК/32; 9 – SU/14; 10 – Мироновская 808; 11 – Аврора; 12 – GS/24; 13 – АБ/18; 15 – Безостая 1; 16 – RS1; 17 – RS7; 18 – МБ/26; 19 – Фишт; 20 – Восторг; 21 – СМБ/48; 22 – АК/19; 23 – АК/28; 24 – Ростислав; М – маркер длины фрагментов ДНК.

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 (табл. 41). Это может быть связано либо с отсутствием 2D хромосомы в результате замещения, либо с присутствием гомеологичной хромосомы, отдаленной от 2D хромосомы мягкой пшеницы. Для образцов, показавших наличие аллелей, отличных от *Ppd-D1a* и *Ppd-D1b* характерных для мягкой пшеницы, а также для линий, у которых амплификация на данном маркере отсутствовала, дополнительно был проведен анализ с помощью микросателлитного маркера *Xgwm261*, сцепленного с геном *Rht-8*. Так как ген *Ppd* тесно сцеплен с геном короткостебельности *Rht-8* (Worland, 1996).

Таблица 41. Характеристика интрогрессивных линий мягкой пшеницы по наличию аллелей генов *Ppd-D1* и *Rht-8*.

Название образца	Идентифицируемый маркер	
	Ppd-D1	*Xgwm261*
МБ/31	Амплификация отсутствует	-
МК/39	Амплификация отсутствует	-
СМБ/29	Амплификация отсутствует	-
СМК/4	Амплификация отсутствует	-
СМК/8	Амплификация отсутствует	-
АА/2	Амплификация отсутствует	-
АА/6	Амплификация отсутствует	-
АА/21	Амплификация отсутствует	-
АБ/18	Амплификация отсутствует	-
АК/19	чужеродный аллель	-
АК/28	чужеродный аллель	-
АК/32	Амплификация отсутствует	-
КАБ/9	Амплификация отсутствует	-
КАБ/11	Амплификация отсутствует	-
SM/2	Амплификация отсутствует	-
SU/14	Амплификация отсутствует	-
RS1	чужеродный аллель	-
RS6	чужеродный аллель	-
RS7	чужеродный аллель	-
T. miguschovae	*Ppd-D1b*	190 п.н.
Авродес	Амплификация отсутствует	-

В результате проведённого анализа выявлено, что у всех образцов амплификация с применением маркера *Xgwm261* отсутствовала. Таким образом, полученные данные подтверждают отсутствие у этих образцов хромосомы 2D мягкой пшеницы. В синтетической форме *T. miguschovae* выявлен фрагмент амплификации 190 п.н.

Заключение к главе 3.1.3.

В результате ДНК-анализа в изучаемом материале выявлено значительное аллельное разнообразие. Молеклярные маркеры, отобранные для работы, могут успешно применяться в схемах MAS-селекции пшеницы для идентификации аллельных вариантов генов, детерминирующих устойчивость к листовой ржавчине, контролирующих высоту растений, кодирующих синтез амилозы в крахмале и контролирующих чувствительность растений к фотопериоду и яровизации. Кроме того, они могут также использоваться в качестве основного инструмента для отбора генотипов, включающих их.

Синтетическая форма *T. miguschovae*, несет маркер *GDM35*, сцепленный с геном *Lr39*, а также маркеры (WMC382 и GDM87), фланкирующие локус *Lr50*. У Авродес выявлены маркеры AGA7-759S30, CS421570 и BCD26035R2, соответствующие генам *Lr28*, *Lr35* и *Lr51*. В то время как локусов, сцепленных с генами *Lr47* и *Lr66* у этой формы не обнаружено. Возможно, это связано с тем, что образцы дикорастущих видов, использовавшиеся для создания изучаемых синтетиков, не несли генов *Lr21*, *Lr32* от *Ae. tauschii* и *Lr47*, *Lr66* от *Ae. speltoides*.

Оценка линий на наличие генов устойчивости к листовой ржавчине выявила присутствие как единичных, так и комплексов эффективных генов. У большинства линий идентифицированы утратившие эффективность гены *Lr10*, *Lr26*, *Lr34*, переданные от сортов- реципиентов. В тоже время сочетание этих генов с эффективными генами *Lr39*, *Lr50*, *Lr28*, *Lr35* и *Lr51*, переданными от дикорастущих сородичей, позволяет линиям значительно повысить адаптивность к популяции патогена. Отобраны линии с двумя, тремя генами устойчивости к листовой ржавчине, 3 линии (GS/3, GS/25, АК/11) с пирамидой из 4 генов и одна

АК/8, несущая комбинацию из 5 генов, которые представляют интерес для селекции на устойчивость к этой болезни.

В ходе фитопатологической оценки материала выявлено 73 устойчивых к листовой ржавчине линии, у которых не были идентифицированы ДНК-маркеры, сцепленные с анализируемыми генам. У 182 устойчивых к болезни линий присутствовали маркеры, сцепленные только с неэффективными генами *Lr10, Lr26, Lr34.* Предположительно, устойчивость к листовой ржавчине у них обусловлена наличием других генов, отличных от генов *Lr21, Lr32, Lr39, Lr50, Lr28, Lr35, Lr51, Lr47* и *Lr66.* В тоже время, они могут нести гены *Lr42, Lr22a,* полученные от *Ae. tauschii,* и ген *Lr36,* переданный от *Ae. speltoides* идентификация которых не проводилась. Следует отметить, что ген *Lr42* относится к группе частично эффективных в России (Садовая и др., 2014). В то время, как ген возрастной устойчивости *Lr22a* входит в группу умеренно эффективных в США, Австралии, Европе (Mesterhazy et al., 2000) и высокоэффективных в Канаде (Hiebert et al., 2007). По данным Е.Д. Коваленко и др., (2012), ген *Lr22a* является эффективным на всей территории России. Е.И. Гультяева (2012) относит *Lr22a* к перспективным для использования в селекции России среди генов устойчивости взрослых растений. Не стоит также исключать возможность потери маркеров, сцепленных с анализируемыми генами, при рекомбинациях в процессе беккроссирования и самоопылений. В то же время, что немаловажно, изученные линии могут нести и новый(е) гены устойчивости к листовой ржавчине, переданные от дикорастущих видов.

Отобраны перспективные для селекции мягкой пшеницы линии с мутантными аллелями генов короткостебельности. Линии: МК/30, АА/35, GS/33, SU/4 - несут аллель *Rht-B1b*; SM/2, СМК/4, АК/34 - *Rht-B1e*; КАБ/11, АК/19, АК/28, КАБ/9 - *Rht-D1b;* МБ/32, GS/1, СМК/12 - *Rht8*c. Сочетание аллелей *Rht-B1b*+ *Rht8*c идентифицировано в линиях СМК/25 и СМК/36, *Rht-B1e*+*Rht8*c - в линиях GS/19, СМБ/12, СМБ/29, СМБ/49. В линиях МБ/30, СМК/8, МК/14, АК/31, СМБ/46 выявлены аллели *Rht-D1b*+*Rht8*c. Отобраны линии МК/14, МК/30, МБ/30, СМБ/12, СМБ/46, СМБ/49, СМК/36, АА/2, АА/19, АА/35, АБ/11, GS/1, GS/19, GS/32, GS/33

и SU/4, у которых выявлен доминантный аллель гена *Ppd-D1a*, снижающий высоту и ускоряющий время цветения растений.

В ряде случаев у синтетических форм и производных от них линий наблюдалось отсутствие амплификация при проведении ПЦР. Так, в линиях МК/30, СМК/4, КАБ/11, АК/34, GS/33, АК/19, АК/28, КАБ/9, SM/2, SU/4, а также в синтетических формах *T. migushovae* Авродес, RS1, RS7 отсутствовали продукты амплификации маркера *Xgwm261,* сцепленного с геном *Rht-8*. Полученные результаты можно объяснить отсутствием хромосомы 2D или её замещением на гомеологичную ей хромосому 2S от *Ae. speltoides* или 2D *Ae. tauschii*. В синтетических формах Авродес, RS1, RS7 и у линий GS/1, АК/19, АК/28 выявлено отсутствие амплификации с D-генома при изучении аллельного состояния *Wx*-генов. В линиях МБ/26, СМБ/29, АК/19, АК/28, АБ/11, SU/14, а также синтетических формах Авродес и RS7 отсутствие продукта амплификации при идентификации гена *Vrn-D1* можно объяснить отсутствием хромосомы 5D или наличием неизвестного аллеля *Vrn-D1,* чужеродного происхождения, не маркируемого используемыми праймерами. У синтетической формы *T. miguschovae* аллели генов *Wx-A1* и *Wx-B1* отличаются от таковых у мягкой пшеницы и могут иметь другое фенотипическое проявление на формирование крахмала. Предположительно, *T. miguschovae* может нести неизвестный аллель гена *Vrn-A1*. Авродес и линии СМБ/29, АК/31, КАБ/11, АК/32, АБ/11, SM/2, SU/4 и SU/14 имеют дополнительный фрагмент амплификации 120 п.н., что может быть связано с интрогрессией чужеродного генетического материала. *T. miguschovae*, Авродес и линии СМБ/12, GS/1, СМК/4, АА/19 предположительно, могут нести нетипичный для мягкой пшеницы аллель гена *Vrn-B1*. Данный аллель мог возникнуть путём хромосомных перестроек (транслокаций, замещений), при этом исходный ген пшеницы *Vrn-B1* оказался утрачен данными формами. В синтетических формах RS1, RS7 и линиях АК/19, АК/28 выявлен нетипичный для мягкой пшеницы фрагмент амплификации размером около 150 п.н., предположительно, они могут нести неизвестный аллель гена *Ppd-D1*.

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

В настоящее время ДНК-технологии используются в качестве важного инструмента для повышения эффективности селекционного процесса. Положительные результаты, полученные с их применением, способствовали к появлению MAS – направления селекции с помощью молекулярных маркеров.

Селекция с помощью ДНК-маркеров — это комплексная технология, включающая как традиционные селекционно-генетические, так и молекулярные-генетические подходы. Она предполагает применение молекулярных методов для идентификации генов или отдельных участков ДНК, создания молекулярных маркеров, накопления информации о строении генома, содержания отдельных генов и их комбинаций в генотипах сельскохозяйственных растений. Располагая такой информацией, можно целенаправленно подбирать генотипы с ценными свойствами, вводить нужные гены во вновь создаваемые сорта, проводить отбор интересующих генотипов на молекулярном уровне или наоборот, своевременно выбраковывать образцы, не содержащие нужные признаки (Koebner, 2003; Collard, 2005). Различные схемы MAS применяются для передачи мягкой пшенице генов, сцепленных с хозяйственно-ценными признаками, при этом, в сравнении с методами традиционной селекции данная технология имеет ряд преимуществ. Например, с её помощью можно существенно сократить объём выборки, время при проведении беккроссов, контролировать размер переносимого фрагмента и, что очень важно, анализ ДНК-маркерами можно проводить на всех этапах развития растения в лабораторных условиях (Timonova et al., 2013).

«Основная стратегия MAS состоит в определении тесного сцепления между маркером и геном, обуславливающем признак, и применении ассоциации маркер – признак в практических целях для получения ценного селекционного материала и создания новых сортов» (Леонова, 2013).

MAS является одним из важных направлений селекции пшеницы НЦЗ им. П.П. Лукьяненко. Объектами работы с ДНК-маркерами являются гены, детерминирующие устойчивость к болезням: листовой (*Lr*), жёлтой (*Yr)* и стеблевой (*Sr*) видам ржавчины, контролирующие высоту растений (*Rht*), гены чувствительности к фотопериоду (*Ppd*), потребности в яровизации (*Vrn*) и определяющие состав крахмала (*Wx*).

Ежегодно большое количество селекционного материала (сорта, коллекционные образцы, линии мягкой пшеницы), проходят генотипическую оценку на присутствие ДНК-маркеров, сцепленных с генами ценных для мягкой пшеницы признаков. В то же время активно ведётся работа по передаче целевых генов в сорта пшеницы и контроль передачи с применением ДНК-маркеров.

4.1. Использование молекулярных маркеров в селекции пшеницы на устойчивость к листовой ржавчине

Климатическим условия, характерные для Краснодарского края, а также возделывание пшеницы на больших площадях (более 1,5 млн. га) способствуют сильному развитию патогена и периодически приводят к эпифитотиям. Наиболее сильная эпифитотия листовой ржавчины была зарегистрирована в 1973 г., она была обусловлена широким возделыванием близкородственных сортов Аврора, Кавказ, Безостая 2.

Снижение частоты и силы эпифитотии листовой ржавчины в последние 10 лет достигнуто за счет постепенного увеличения генетического разнообразия сортов озимой пшеницы и мозаичного их распределения (Худокормова, Беспалова, 2011). В то же время протекающий в природе формообразовательный процесс приводит к появлению новых, различных по вирулентности биотипов и рас патогена. Это является причиной того, что в условиях определённой зоны возделывания устойчивость эффективных генов может быть преодолена. Так, например, в последние годы сообщалось о преодолении устойчивости таких эффективных генов, как *Lr9* и *Lr19,* (Плотникова и др., 2018; Гультяева, 2019).

Исходя из выше сказанного, актуальной задачей практической селекции пшеницы является создание сортов, отличающихся генетическим разнообразием по устойчивости к листовой ржавчине. Важным условием достижения успеха в этой работе является достаточный запас в виде доноров и источников эффективных *Lr*-генов. При этом целесообразно использовать для переноса гены и комбинации генов, происходящие от различных видов и имеющих разные механизмы устойчивости, так как это позволяет повысить её уровень и длительность. В России, перспективными для использования в селекции пшеницы являются высокоэффективные гены *Lr24*, *Lr28*, *Lr29*, *Lr39(41)*, *Lr47*, *Lr50*, а также гены устойчивости взрослых растений *Lr22a*, *Lr35*, *Lr37*, *Lr48*, *Lr49* (Гультяева и др., 2012).

За последние десятилетия были предприняты обширные усилия в направлении применения молекулярных маркеров, которые показали себя как мощный инструмент для повышения эффективности селекции растений. В том числе, ДНК-маркеры успешно использовались для решения селекционных задач, направленных на повышение уровня устойчивости пшеницы к листовой ржавчине. Для выявления многих *Lr*-генов используют сцепленные с ними молекулярные маркеры, однако только для 15 % из них валидированы и рекомендованы для использования в схемах MAS (Леонова, 2013). Валидация означает тестирование способности ДНК-маркеров предсказывать фенотип на широком наборе сортов, изогенных линий, популяций в различном генетическом окружении и в различных условиях окружающей среды.

В Краснодарском НЦЗ селекция на устойчивость к листовой ржавчине ведётся с применением как традиционных методов – внутривидовая и отдаленная гибридизация, индивидуальный отбор, так и с помощью молекулярных маркеров. Из литературных источников нами были подобраны известные, эффективные для отбора маркеры, сцепленные с генами: *Lr9*, *Lr10*, *Lr19*, *Lr24*, *Lr26*, *Lr34*, *Lr37*, которые активно применяются в селекционной работе по созданию генетически разнообразного исходного материала и сортов с различной природой устойчивости к листовой ржавчине.

4.1.1. Генотипирование сортов мягкой пшеницы на присутствие ДНК-маркеров, сцепленных с генами устойчивости к листовой ржавчине

С применение ДНК-маркеров, изучено 46 коммерческих сортов селекции НЦЗ с целью характеристики их генотипов по наличию генов устойчивости к листовой ржавчине *Lr9, Lr10, Lr19, Lr24, Lr26, Lr34, Lr37*. Результаты работы представлены в таблица 42.

Таблица 42. Результаты анализа сортов мягкой пшеницы селекции НЦЗ на присутствие генов устойчивости к листовой ржавчине *Lr9, Lr10, Lr19, Lr24, Lr26, Lr34, Lr37*

Ген	Сорт
Lr10	Батько, Гром, Нота, Краля, Краснодарская 99, Трио, Этнос, Юмпа
Lr19	Паллада, Яра
Lr26	Баграт, Васса, Вершина, Иришка, Курень, Лауреат, Ольхон, Уруп, Фортуна
Lr34	Дмитрий, Есаул, Калым, Лига 1, Протон, Юнона, Кума, Юбилейная 100
Lr37	Морозко
Lrl0+Lr26	Коллега, Антонина, Стан, Курс
Lr10+Lr34	Зимтра
Lr26+Lr34	Афина, Дока, Таня, Утриш
Lr10+Lr26+Lr34	Адель, Айвина, Вита, Юка

Высокоэффективные в большинстве регионов нашей страны гены *Lr9* и *Lr24* в анализируемых сортах не были найдены. Ген *Lr10* выявлен в сортах Батько, Гром, Нота, Краля, Краснодарская 99, Трио, Этнос, Юмпа. У сортов Паллада и Яра идентифицирован эффективный на территории Краснодарского края ген *Lr19*. Ген *Lr26* обнаружен в сортах Баграт, Васса, Вершина, Иришка, Курень, Лауреат, Ольхон, Уруп, Фортуна. Ген *Lr34* выявлен в сортах Дмитрий, Есаул, Калым, Лига

1, Протон, Юнона. В высокоустойчивом сорте Морозко идентифицирован ген *Lr37*. В сортах Афина, Дока, Таня, Утриш выявлен ген *Lr26* в сочетании с *Lr34*. Комбинация генов *Lr10+Lr26* идентифицирована в сортах - Коллега, Антонина, Стан, Курс, а *Lr10+Lr34* - у сорта Зимтра. Сорта с неспецифичной устойчивостью Адель, Айвина, Вита и Юка несут комбинацию генов: *Lr10, Lr26, Lr34*. В сортах Сила, Лебедь, Бригада, Табор и Ласточка искомые гены не идентифицированы.

Таким образом, в изученных сортах преобладают утративший эффективность ген *Lr10*, а также слабоэффективные *Lr26* и *Lr34*. Следует отметить, что *Lr10* является одним из наиболее широко представленных генов в российских сортах, который, в следствии широкого возделывания сортов, несущих его потерял эффективность во всем мире. В тоже время, согласно R.A. McIntosh с соавт. (1995), *Lr10* может быть эффективен в сочетании с другими генами. Утративший эффективность ген *Lr26* входит в состав пшенично-ржаной транслокации 1BL.1RS. В одной транслокации с ним находятся гены устойчивости к мучнистой росе (*Pm8*), стеблевой (*Sr31*) и желтой (*Yr9*) ржавчинам, в связи с чем ген *Lr26* в сочетании с другими генами устойчивости представляет особый интерес для селекции. Следует отметить, что в условиях Краснодарского края хороший эффект по устойчивости к листовой ржавчине показывают комбинации генов *Lr10+Lr26+Lr34, Lr26+Lr34, Lr10+Lr26, Lr10+Lr34* (Аблова и др., 2014).

Ген устойчивости взрослых растений гексаплоидной пшеницы *Lr34* обеспечивает широкий спектр устойчивости к листовой ржавчине пшеницы (*Lr34*), жёлтой ржавчине (*Yr18*), стеблевой ржавчине (*Sr57*) и мучнистой росе (*Pm38*). Частичная устойчивость, обеспечиваемая этим геном, проявляется только у взрослых растений и неэффективна на стадии проростков. Известно, что в сортах, несущих ген *Lr34,* несмотря на восприимчивый тип реакции, болезнь развивается медленнее. Так, например, сорта пшеницы, созданные в CIMMYT, сохраняли устойчивость к листовой ржавчине в различных регионах мира более 30 лет, при этом генетической основой служили гены возрастной устойчивости *Lr13* и *Lr34,* дополненные 2–3 генами с аддитивным эффектом (Singh et al., 2003). Кроме того, было показано, что *Lr34* повышает устойчивость к листовой ржавчине в сочетании

с другими генами устойчивости, например, такими как расоспецифичный ген *Lr37* (German & Kolmer, 1992)

До недавнего времени ген *Lr37* являлся высокоэффективным во всем мире. Однако в середине 2000-х годов он утратил эффективность в Западной Европе в следствии широкого возделывания сортов – его носителей. В условиях северо-запада России в 2011 г. пораженность сортов и линий листовой ржавчиной возросла до 5 % (Гультяева, Баранова, 2010). Несмотря на потерю эффективности в ряде регионов, ген устойчивости взрослых растений *Lr37* рекомендован для селекции во многих странах мира, в том числе и в России.

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

Полученные при анализе сортов результаты, послужили основанием для начала, в отделе селекции и семеноводства пшеницы и тритикале, работ по передаче им эффективных в условиях Краснодарского края генов устойчивости к листовой ржавчине. В качестве доноров были использованы почти изогенные линии сорта Thatcher с генами *Lr9*, *Lr19*, *Lr24* и *Lr37*, которые были перенесены в мягкую пшеницу от дикорастущих видов. Выбор генов, используемых для передачи в сорта, связан с их устойчивостью к возбудителю листовой ржавчины на территории Краснодарского края, а также тем, что они были переданы в составе транслокаций совместно с другими генами устойчивости к болезням. Так, ген *Lr19*, переданный от *Ag. elongatum*, тесно сцеплен с геном устойчивости к стеблевой ржавчине *Sr25*. От этого вида в мягкую пшеницу также передан ген *Lr24*, который сцеплен с *Sr24*. Ген *Lr37*, сцепленный с генами *Sr38* и *Yr17* локализованы в сегменте *Ae. ventricosa* (Tausch) Cess на хромосоме 2NS и транслоцирован в короткое плечо хромосомы 2AS мягкой пшеницы. Ген *Lr9* передан в мягкую пшеницу от *Ae. umbellulata* и до недавнего времени принадлежал к группе высокоэффективных во всем мире. В настоящее время вирулентность к гену *Lr9* отмечается как в регионах выращивания сортов с этим геном, так и за их

пределами. Однако *Lr9* продолжает оставаться эффективным в условиях Краснодарского края.

Метод передачи генов устойчивости представлял собой упрощённый вариант маркер-опосредованного беккросса (рис. 47). Для осуществления его в полном объёме необходимо проводить отбор растений, несущих максимальное количество генетического материала рекуррентного родителя и участки хромосом с хозяйственно-ценными признаками от сорта-донора (Collard et al., 2005). В работе M. Frisch с соавт. (1999) было показано, что при использовании достаточного числа маркеров, равномерно распределённых по всему геному, можно достигнуть совпадения с одним из родителей на 94,6 % уже за два беккросса. Однако нами целенаправленно был выбран упрощённый вариант, при котором отбирались растения, наиболее приближенные к сорту-реципиенту по фенотипу и обладающие целевым геном от сорта-донора. Выбор в качестве доноров линий сорта Thatcher обусловлен наличием в них необходимого целевого локуса и облегчением процедуры передачи. С точки зрения расширения генетического разнообразия, имело смысл, использовать для передачи генов синтетические формы или полученные на их основе интрогрессивные линии. Однако, они могут нести многочисленные фрагменты чужеродного генетического материала, в том числе и с нежелательными свойствами. Таким образом, отбор потомства по желаемому признаку в данном случае представляется более трудоемким в следствии увеличения размера популяции и промежутка времени.

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.

Для идентификации гена *Lr9* применяли маркер J13, который находится на расстоянии 8cM от него (Schachermayer et al., 1994). Ген *Lr19* определяли с помощью тесно-сцепленного с ним STS-маркера Gb (Prins et al., 2001). STS-маркеры J09 и Ventriup/LN2 применяли для идентификации генов *Lr24* и *Lr37* соответственно (Schachermayr 1994; Helguera et al., 2003).

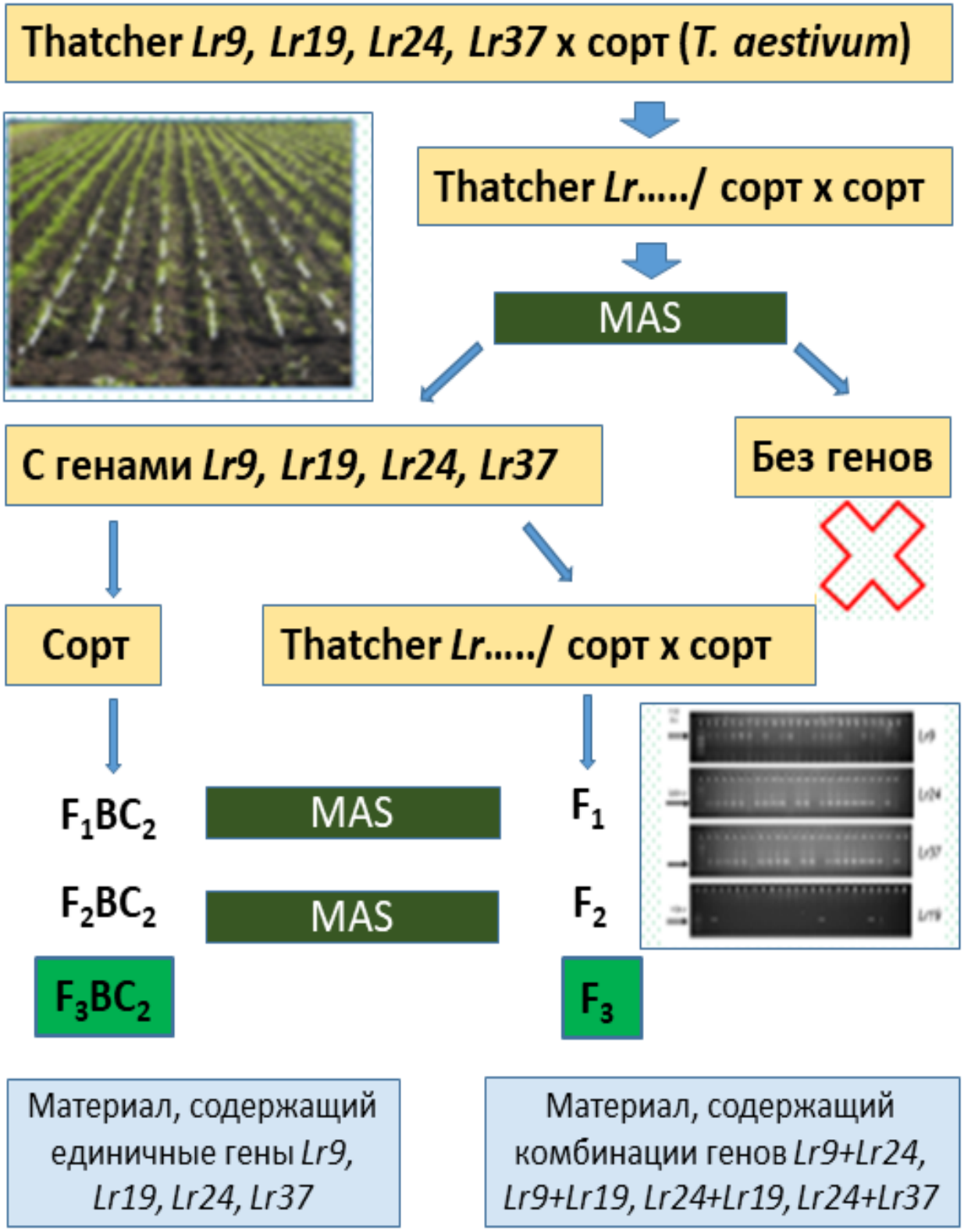


Рисунок 47. Применение маркер опосредованного беккросса для передачи в сорта мягкой пшеницы и пирамидирования генов устойчивости к листовой ржавчине (Беспалова и др., 2012).

Растения, у которых были выявлены ДНК-маркеры, сцепленные с искомыми генами, отбирали для повторного беккросса, а также для проведения скрещиваний по объединению нескольких *Lr*-генов в одном генотипе. По данным Bonnett et al. (2005), молекулярные маркеры в ранних поколениях позволяют проводить более точный отбор в сравнении с отбором по фенотипу, тогда как скрининг в более поздних поколениях часто дает мало или совсем не дает преимуществ относительно традиционных методов отбора. Следует отметить, что для обеспечения большей вероятности отбора растений с целевым генотипом, как правило, необходимо увеличивать размеры популяции. В данном контексте выбор эффективной стратегии скрещиваний и отбора имеет потенциал к уменьшению количества затрачиваемых ресурсов (трудозатрат, количества растений, опытных площадей, маркерных анализов и др.), которые необходимы для передачи и объединения набора целевых аллелей в новый генотип. По данным Bonnett с соавт. (2005), применение метода возвратного скрещивания, является одним из эффективных методов уменьшения размера популяции, при условии, что один родитель вносит больше целевых аллелей, чем другие.

После проведения беккросса потомство растений BC_2F_1 генотипировали с помощью маркеров, применяемых для идентификации генов *Lr9, Lr19, Lr24* и *Lr37*. Исходя из результатов маркерного отобра были выявлены растения с целевыми генами. Частота встречаемости целевых генов устойчивости, передаваемых от сортов-доноров у беккроссного потомства BC_2F_1, составила для генов *Lr9* и *Lr19* 30% и 46 % соответственно. Ген *Lr24* встречался в потомствах с частотой до 27%. С высокой частотой в потомстве встречался ген *Lr37*, который имели 63 % проанализированных растений.

Растения BC_2F_1, отобранные маркерами, были использованы для проведения нескольких этапов самоопыления. На каждом из них с помощью ПЦР выявляли образцы, несущие маркеры, сцепленные с интрогрессируемыми генами. На рисунке 48, в качестве примера, представлены результаты ПЦР с праймерами к диагностическому маркеру *Ventriup/Ln2*, сцепленному с геном устойчивости к листовой ржавчине *Lr37* у растений BC_2F_2.

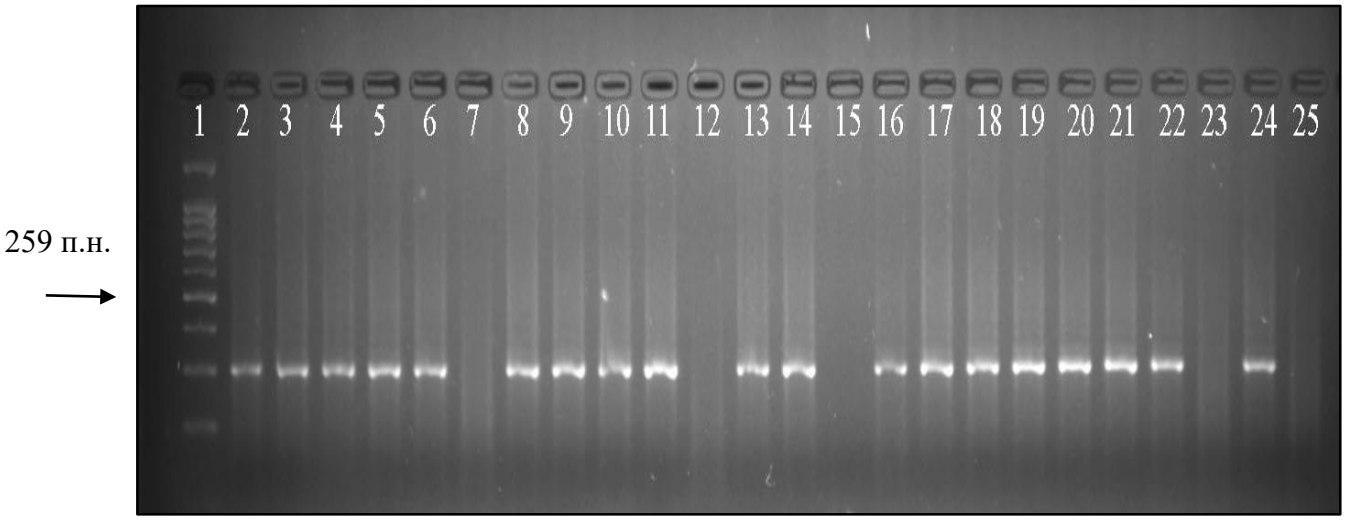


Рисунок 48. Электрофореграмма продуктов амплификации с использованием праймеров Ventriup и Ln2 к диагностическому маркеру, сцепленному с геном *Lr37*. 1 – маркер длины; 2 – TcLr37 (К+); 3–25 – растения, полученные от скрещивания сорта Thatcher (TcLr37) с сортом Гром.

Сегрегация отобранных маркеров, сцепленных с генами *Lr9*, *Lr19*, *Lr24*, *Lr37* в поколении BC_2F_2 соответствовала теоретически ожидаемому соотношению 3:1 ($\chi2$ = 1,33, $\chi2$ = 0,85; $\chi2$ = 0,55; $\chi2$ = 0,64; соответственно, P> 0,25) (табл. 43). Наибольшее соответствие с ожидаемыми значениями выявлено в популяциях с геном *Lr24*, *Lr19* и *Lr37*.

Таблица 43. Наследование маркерных генов *Lr9*, *Lr19*, *Lr24* и *Lr37* в потомстве BC_2F_2 растений мягкой пшеницы

Интргрессируемый ген	Число изученных линий	Число линий с *Lr*-геном	$\chi2$	P
Lr9	256	205	1,33	0,50-0,25
Lr19	311	221	0,85	0,75-0,50
Lr24	1005	743	0,55	0,50-0,25
Lr37	1168	841	0,64	0,50-0,25

Кодоминантные ДНК-маркеры являются более предпочтительными в подобной работе, однако полученные нами, а также другими авторами результаты показывают, что отобранные доминантные маркеры также успешно могут быть использованы для MAS при переносе генов *Lr* (Naik et al.,1998 г., Seyfarth et al.,1999).

Ввиду доминантного характера наследуемости отобранных для идентификации *Lr*-генов молекулярных маркеров, начиная с BC_2F_2, дополнительно проводилась проверка на признак устойчивости к листовой ржавчине. В таблице 44 показано процентное соотношение устойчивых и восприимчивых к листовой ржавчине растений потомства BC_2F_2.

Таблица 44. Количество восприимчивых и устойчивых к листовой ржавчине растений мягкой пшеницы потомства BC_2F_2

Передаваемый ген	Растений с *Lr*-генами, шт.	Количество устойчивых растений, %	Количество восприимчивых растений, %
Lr9	205	82	18
Lr19	221	98	2
Lr24	743	95	5
Lr37	841	87	13

У 205 растений с геном *Lr9* процент устойчивых и восприимчивых образцов составил 82 и 18 соответственно. Свыше 95% растений, несущих маркеры, сцепленные с генами *Lr19* и *Lr24*, были устойчивыми к листовой ржавчине. Это согласуется с данными Schachermayr et al. (1995), которые подтвердили, что STS-маркер J09 является доминантным, а все устойчивые растения F_2, экспрессирующие амплифицированный фрагмент ДНК длиной 350 п.н., полностью сцеплены с геном *Lr24*, в то время как ни одно из чувствительных к листовой ржавчине растений не показало этот продукт амплификации. Ожидаемые результаты получены и для гена *Lr19*, так как применяемый для его идентификации

маркер Gb является внутригенным. Из 841 растения с геном *Lr37*, устойчивыми были 87% и 13% восприимчивы.

В результате проделанной работы в BC_2F_3 было отобрано 1577 линий, содержащих единичные *Lr*-гены, которые изучались в различных селекционных питомниках (таблица 45). Начиная с этого этапа, проводились полевые и лабораторные отборы растений. Основными критериями которых служили оценки по фенотипу, продуктивности и устойчивости к болезням, качеству зерна и другим признакам.

Таблица 45. Количество линий, отобранных для дальнейших иследований с помощью MAS и лабораторных оценок, 2016г.

Питомник по схеме селекционного процесса	Линий с *Lr*-генами, шт.	Кол-во линий, после полевой выбраковки, шт.	Кол-во линий, после лабораторной оценки, шт.	Процент от общего количества, %
Селекционный	1393	539	304	22
Контрольный	150	86	32	21
Конкурсное сортоиспытание	34	14	12	41

В селекционном питомнике из 1393 линий после полевой браковки (до уборки) было выбрано 539 наиболее интересных для селекции, из которых после лабораторных оценок отобраны 304. В КП изучалось 150 линий, из которых для дальнейшей работы отобрано только 15 %. Для изучения в КСИ было отобрано 14 линий. Таким образом, для дальнейшей работы было отобрано 350 (22% от общего числа) наиболее перспективных линий.

По результатам изучения в КП 86 линий по признакам высоты растений, урожайности, процентному содержанию белка и клейковины были отобраны лучшие, наиболее перспективные для селекции 12 линий (табл. 46).

Таблица 46. Характеристика лучших линий КП по наличию генов *Lr,* высоте растений, содержанию белка и клейковины (2016г.)

Линия, сорт	Ген устойчивости	Высота растений, см	Урожай-ность, кг/4,5м^2	Содержание белка,%	Содержание клейковины ,%
М.21-кп.24	*Lr24*	84	4,0	16,9	34,3
М.104-кп.24	*Lr24*	79	4,1	15,3	30,8
М.103-кп.37	*Lr37*	82	4,2	15,1	29,5
М.11-кп.37	*Lr37*	82	4,0	14,3	26,2
М.15-кп.37	*Lr37*	96	4,5	15,0	28,4
М.162-кп.37	*Lr37*	98	4,3	14,1	25,8
М.43-кп.37	*Lr37*	80	4,0	14,4	27,2
М.119-кп.37	*Lr37*	73	4,4	13,1	21,7
М.179-кп.37	*Lr37*	94	4,1	13,6	23,4
М.204-кп.37	*Lr37*	84	4,6	14,2	25,5
М.207-кп.37	*Lr37*	91	4,1	13,8	24,9
М.214-кп.37	*Lr37*	73	4,1	14,2	27,8
Гром, ст.	*Lr10*	80	4,4	13,4	23,6
НСР$_{05}$		3,4	0,3	0,68	2,14

Генотип отобранных линий, был представлен геном *Lr37* в линиях М.103-кп.37, М.11-кп.37, М.15-кп.37, М.162-кп.37, М.43-кп.37, М.119-кп.37, М.179-кп.37, М.204-кп.37, М.207-кп.37, М.214-кп.37, а также геном *Lr24* в линиях М.21-кп.24 и М.104-кп.24. Высота растений варьировала от 73 см у линий М.119-кп.37 и М.214-кп.37 до 98 см в линии М.162-кп.37. Урожайность (кг/ с 4,5м^2) у линии М.104-кп.24 с геном *Lr*24 и у линий М.103-кп.37, М.15-кп.37, М.162-кп.37, М.119-кп.37, М.179-кп.37, М.204-кп.37, М.207-кп.37, М.214-кп.37 с геном *Lr*37, находилась на уровне стандартного сорта Гром. Урожайность в линиях М.21-кп.24, М.11-кп.37, М.43-кп.37 М.214-кп.37 незначительно уступала стандарту.

По содержанию белка и клейковины линии М.21-кп.24, М.104-кп.24, М.103-кп.37, М.11-кп.37, М.15-кп.37, М.162-кп.37, М.43-кп.37, М.204-кп.37, М.214-кп.37 превышали стандарт. Максимальные значения были получены у линии М.21-кп.24 (белок-16,9 %; клейковина 34,3%).

В ходе анализа отобрана одна линия М.28-кп.9 с геном *Lr9* и три линии М.28-кп.19, М.66-кп.19, М.68-кп.19 с *Lr*19. Эти линии сильно уступали по продуктивности стандарту (урожайность с 4,5м$_2$ не превышала 3,5 кг) и, соответственно, не были рекомендованы для испытания в КСИ. Однако они могут представлять интерес в качестве доноров генов *Lr9* и *Lr19.* К тому же, в линиях М.66-кп.19, М.68-кп.19 дополнительно к гену устойчивости к листовой ржавчине выявлены гены *WxA1b*, *WxB1e,* сцепленные с качеством и влияющие на состав крахмала.

С целью выявления форм с высоким потенциалом урожайности и качества зерна, устойчивых к болезням и несущим ценные хозяйственно-биологические признаки, в дальнейшем проводилось испытание наиболее перспективных линий в КСИ. По результатам изучения линий в конкурсном сортоиспытании были выделены лучшие образцы. Генотипы 12 отобранных линий представлены следующими генами: *Lr9* в линии М.51кс.21; и геном *Lr37* в линиях М.55-кс.4, М.113-кс.1, М.114-кс.2, М.76-кс.8, М.77-кс.13, М.77-кс.9, М.78-кс.13, М.83-кс.26, М.-111кс.4, М.-167кс.1 и М.43-кс.8.

Результаты оценки линий по устойчивости к болезням (мучнистой росе, листовой ржавчине, септориозу и фузариозу), представлены в таблице 47. Линия М.51-кс.21 с *Lr9* характеризовалась высокой устойчивостью к листовой ржавчине и мучнистой росе, поражалась септориозом до 60% и имела умеренную восприимчивость к фузариозу колоса. Все линии с геном *Lr37* высокоустойчивы к листовой ржавчине и мучнистой росе. Линии М.76-кс.8, М.83-кс.26, М.167-кс.1 несут устойчивость к септориозу. Линии М.51-кс.21, М.78-кс.13 умеренно-восприимчивы к фузариозу колоса.

Кроме устойчивости к болезням, линии оценивались по некоторым элементам продуктивности и технологическим качествам зерна (табл. 48).

Таблица 47. Характеристика линий мягкой пшеницы по устойчивости к основным болезням, КСИ, (2020 г.)

Линия	Ген устойчивости	Поражение болезнями, балл, %			
		Мучнистая роса	Листовая ржавчина	Септориоз	Фузариоз колоса/зерна
М.51-кс.21	*Lr9*	5	01	60	5/3
М.55-кс.4	*Lr37*	10	1	70	7/4
М.113-кс.1	*Lr37*	5	1	60	9/7
М.114-кс.2	*Lr37*	10	1	70	9/6
М.76-кс.8	*Lr37*	5	1	20	6/4
М.77-кс.13	*Lr37*	10	1	30	6/4
М.77-кс.9	*Lr37*	5	1	40	7/3
М.78-кс.13	*Lr37*	20	1	30	5/3
М.83-кс.26	*Lr37*	5	1	10	7/4
М.111-кс.4	*Lr37*	5	01	30	9/7
М.167-кс.1	*Lr37*	10	01	10	7/4
М.43-кс.8	*Lr37*	5	01	10	9/6

Высота линий варьировала от 83 см у линии М.43-кс.8 до 110 см у линии М.114-кс.2. Урожайность в линиях варьировала от 5,2 т/га у линии М.55к4 до 9,1 т/га у линии М.77-кс.13. Большинство линий по продуктивности уступают стандартному сорту Гром. Отобраны линии М.77-кс.13, М.77-кс.9, М.78-кс.13, М.43-кс.8 у которых урожайность находятся на уровне стандартного сорта. Все линии характеризовались хорошими показателями содержания белка и клейковины. Максимальные значения по этим признакам наблюдались у линии М.43-кс.8 (белок 15,7%, клейковина 29,5%). По показателям содержания белка все линии за исключением М.77-кс.9, превышают таковые у сорта Гром. Содержание клейковины у большинства линий достоверно выше, чем у сорта Гром.

Таблица 48. Характеристика линий мягкой пшеницы по высоте растений, урожайности и технологическим качествам зерна, КСИ, (2020 г.)

Линия	Ген устойчивости	Высота растений, см	Урожай, т/га	Качество зерна			
				Белок,%	Клейковина,%	SDS, мл.	Натура, г/л
М.51-кс.21	*Lr9*	86	6,9	14,7	26,2	57,4	837
М.55-кс.4	*Lr37*	85	5,2	14,5	25	51,3	778
М.113-кс.1	*Lr37*	94	8,5	14,6	27,6	43,9	794
М.114-кс.2	*Lr37*	110	7,0	15,3	29,1	52,5	781
М.76-кс.8	*Lr37*	96	8,6	14,2	28,3	48,2	788
М.77-кс.13	*Lr37*	88	9,1	14,4	26,8	52,6	805
М.77-кс.9	*Lr37*	95	9,0	14,1	23,0	37,5	760
М.78-кс.13	*Lr37*	92	8,9	14,7	24,9	46,8	780
М.83-кс.26	*Lr37*	95	7,4	14,5	26,4	45,3	797
М.111-кс.4	*Lr37*	93	8,4	14,3	25,9	43,7	778
М.167-кс.13	*Lr37*	85	8,5	14,7	27,1	47,3	792
М.43-кс.8	*Lr37*	83	8,9	15,7	29,5	50,1	793,5
Гром, ст	*Lr10*	80	9,1	13,4	23,6		784
$НСР_{05}$		3,1	0,26	0,73	2,37		

Исключение составили линии М.55-кс.4, М.77-кс.9, М.78-кс.13, у которых данный показатель был на уровне стандартного сорта. Одним из важных показателей качества пшеницы, наряду с содержанием белка, является показатель седиментации. За исключением М.77-кс.9, все линии имеют высокие показатели SDS-седиментации больше 40 мл, что относит их к первой группе качества с сильной клейковиной. Показатели натуры зерна варьировали от 760 до 837 г/л у линиий М.77-кс.9 и М.51-кс.21соответственно.

Таким образом, отобранные нами 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 беккросса линии с единичными генами *Lr* рекомендованы для использования в селекционных программах в качестве ценного исходного материала при создании устойчивых к листовой ржавчине сортов мягкой пшеницы. Выделено две линии (М.21-кп.24, М.104-кп.24) с геном *Lr24*, а также десять линий с геном *Lr37*, которые рекомендованы для испытаний в КСИ. Отобраны линии М.77-кс.13, М.77-кс.9, М.78-кс.13, М.43-кс.8 с геном *Lr37*. Эти линии обладают устойчивостью к болезням (мучнистой росе, листовой ржавчине, септориозу и фузариозу), хорошей продуктивностью и качеством зерна, и рекомендованы для дальнейших испытаний.

4.1.3. Создание исходного материала с объединением нескольких генов устойчивости к листовой ржавчине

Начиная с первого поколения F_1, растения, у которых были выявлены ДНК-маркеры, сцепленные с искомыми *Lr*-генами, отбирали для проведения скрещиваний по объединению нескольких *Lr*-генов в одном генотипе.

Процесс объединения нескольких генов в одном генотипе называется пирамидированием. Основная суть метода заключается в введении в один генетический фон нескольких генов одного и того же признака (например, устойчивости к разным расам патогена) или же разных признаков с использованием молекулярных маркеров. Как правило, в таких случаях отбор по фенотипу становится достаточно затруднительным. Механизмы, с помощью которых пирамиды генов придают длительную устойчивость к болезням малоизучены. Однако, известно, что комбинация нескольких генов устойчивости в одном генотипе, как правило, способствует проявлению более надежной и продолжительной защиты, вследствие расширения генетической основы устойчивости. Способность патогена преодолевать два или более эффективных гена с помощью мутации считается значительно более низкой по сравнению с устойчивостью, контролируемой одним геном. В прошлом было трудно пирамидировать множественные гены устойчивости, потому что они проявляют

один и тот же фенотип и требуют проведения трудоёмкого гибридологического анализа. В тоже время ДНК-маркеры позволяют выявлять растения, имеющие несколько генов устойчивости, а также отбирать генотипы с комбинациями генов на ранних стадиях, например, в популяциях F_2 (Sivasamy et al., 2009; Беспалова и др., 2012).

В нашей работе предполагалось получить линии с сочетанием двух и трёх генов устойчивости к листовой ржавчине. Для этого часть отобранных в результате маркерного анализа растений с единичными *Lr*-генами повторно скрещивали с TchatcerLr//Сорт. Таким образом было получено 6 комбинаций скрещиваний: TcLr19/ линия *Lr9*//Сорт; TcLr24/ линия *Lr9*//Сорт; TcLr37/ линия *Lr9*//Сорт; TcLr24/ линия *Lr19*//Сорт; TcLr37/ линия *Lr19*//Сорт и TcLr37/ линия Lr24//Сорт. Далее с помощью ДНК- маркеров выявляли генотипы, которые несли комбинации генов. В F_2 были отобраны растения с комбинацией *Lr* генов (табл. 49).

Таблица 49. Результаты анализа растений мягкой пшеницы поколения F_2 на присутствие комбинаций генов устойчивости к листовой ржавчине

Комбинация	Всего растений, шт.	Количество растений с комбинацией генов *Lr*	
		шт.	%
Lr9+Lr19	96	58	60
Lr9+Lr24	205	82	40
Lr9+Lr37	95	12	13
Lr19+Lr24	144	77	53
Lr19+Lr37	188	41	22
Lr24+Lr37	432	222	58

Из 96 изученных растений, комбинация генов *Lr9+Lr19* выявлена у - 58, что составило 60 % от общего числа. Отобрано 82 растения с генами *Lr9+Lr24* и 12 образцов с генами *Lr9+Lr37*. У 77 растений обнаружена комбинация генов *Lr19+Lr24*. Идентифицировано 41 растение с диагностическими маркерами,

сцепленными с генами *Lr19+Lr37* и 222 образца - с генами *Lr24+Lr37*. Самый высокий процент отобранных растений с двумя *Lr*-генами, относительно общего числа проанализированных, выявлен у образцов с комбинациями *Lr9+Lr19, Lr24+Lr37, Lr19+Lr24, Lr9+Lr24,* и составил 60, 40, 53 и 58 % соответственно.

Растения с комбинациями двух генов *Lr*, отобранные в результате маркерного анализа использовались для получения линий с сочетанием трёх генов *Lr*. Для этого их скрещивали с Tchatcer*Lr*...//Сорт и далее проводили несколько этапов самоопыления и маркерных отборов.

По результатам генотипирования F_5 выявлено 10 линий с комбинацией генов *Lr9+Lr19,* 25 линий - с сочетанием генов *Lr24+Lr37,* 7 линий - с пирамидой из трех генов *Lr9+Lr19+Lr37* и одна - с генами *Lr9+Lr24+Lr37*. Эти линии были изучены в контрольном питомнике. Характеристика наиболее перспективных из них по урожайности, содержанию белка и клейковины, высоте растений представлена в таблице 50.

Высота растений у линий пшеницы варьировала от 75 у линии П.173Мс9 до 95 см у линии П.150Мс3. По этому признаку линии распределились на две группы. Группу короткостебельных (до 105 см) составила линия П.150Мс3 с комбинацией генов *Lr24+Lr37*. Остальные линии составили группу полукарликов (до 90 см). Диапазон показателей урожайности с одной делянки (4,5 $м^2$) составлял от минимального 2,9 кг у линии П.128Мс1 до максимального 4,3 кг П.172Мс4. Примечательно, что линия П.172Мс4 к тому же единственная отобранная с пирамидой из трёх генов устойчивости. Содержание белка и клейковины у линий П.28Мс36, П.29Мс38, П.12Мс4 П.14Мс5, П.25Мс6, П.30Мс21, П.128Мс1, П.150Мс3, П.140Мс2, П.159Мс2 достоверно выше, чем у стандартных сортов. У остальных линий таковые находятся на уровне сортов Таня и Гром. Выделены линии П.25Мс6 и П.128Мс1 с высоким содержанием белка и клейковины, свыше 16 и 32% соответственно. Следует отметить, что все отобранные линии несли устойчивость к листовой ржавчине и мучнистой росе. В линиях П.28Мс36, П.29Мс38 выявлена устойчивость к септориозу.

Таблица 50. Характеристика перспективных линий с комбинацией *Lr*-генов, по хозяйственно-ценным признакам КП, (2021 г.)

Название линии, сорта	Комбинация *Lr*-генов	Высота растения, см	Урожай-ность, кг/4,5м^2	Содержа ние белка,%	Содержа ние клейковины, %
П.28Мс36	*Lr9+Lr19*	85	3,60	15,2	27,6
П.29Мс38	*Lr9+Lr19*	80	3,8	14,6	27,9
П.12Мс4	*Lr24+Lr37*	85	4,1	15,3	30,8
П.14Мс5	*Lr24+Lr37*	80	3,4	14,3	26,8
П.25Мс6	*Lr24+Lr37*	85	3,6	16,2	31,6
П.30Мс21	*Lr24+Lr37*	80	3,9	15,6	30,1
П.128Мс1	*Lr24+Lr37*	90	2,9	16,4	32,9
П.150Мс3	*Lr24+Lr37*	95	3,9	15	28,4
П.140Мс2	*Lr24+Lr37*	85	3,0	14,7	28,5
П.159Мс2	*Lr24+Lr37*	90	3,9	14,7	27,9
П.169Мс3	*Lr24+Lr37*	85	4,2	14	24,5
П.173Мс9	*Lr24+Lr37*	75	4,2	13,8	24,4
П.225Мс7	*Lr24+Lr37*	80	4,1	13,4	23,0
П.240Мс8	*Lr24+Lr37*	85	4,2	14	25,3
П.172Мс4	*Lr9+Lr24+Lr37*	85	4,3	13,5	23,9
Таня, ст.	*Lr26+Lr34*	90	4,5	13,5	24,5
Гром, ст.	*Lr10*	80	4,4	13,4	23,6
$НСР_{05}$		3,5	0,4	0,6	2,3

Высокая морозостойкость наблюдалась у линий П.169Мс3, П.173Мс9 П.225Мс7, П.240Мс8 комбинацией генов *Lr24* и *Lr37*.

По результатам изучения линий с комбинациями *Lr*-генов, были отобраны лучшие, наиболее перспективные для дальнейшего изучения в КСИ. Такие как,

линии П.28Мс36, П.29Мс38 с комбинацией генов *Lr9+Lr19* устойчивые к септориозу, обладающие хорошими показателями содержания белка и клейковины. Линии П.12Мс4, П.169Мс3, П.173Мс9, П.225Мс7, П.240Мс8 с генами *Lr24* и *Lr37* имеют хорошую продуктивность до (4,3 кг/4,5м^2), хорошую оценку зерна 7 и 8 баллов. Линии П.225Мс7, П.240Мс8 к тому же обладают высокой морозостойкостью. Линия П.173Мс9 имеет высоту растений 75см и обладает высокой морозостойкостью. Выделена перспективная для селекции мягкой пшеницы линия П.172Мс4 с пирамидой генов *Lr9+Lr24+Lr37,* с высокой оценкой по морозостойкости и зерну. Кроме того, линия П.172Мс4 - низкорослая и имеет хороший потенциал по продуктивности.

Таким образом, с помощью маркер-опосредованного беккросса получены новые линии с комбинациями *Lr*-генов. Эти линии представляют большой интерес в качестве ценного исходного материала для создания устойчивых к листовой ржавчине сортов мягкой пшеницы. Используемые в работе ДНК-маркеры показали высокую эффективностью при отборе линий как с единичными генами устойчивости, так и их пирамидами. Это позволяет значительно сократить объём выборки и, соответственно, сократить срок создания новых устойчивых к листовой ржавчине сортов мягкой пшеницы. Отобрано 7 линий с комбинацией 2х генов и одна с пирамидой 3х генов *Lr*, которые рекомендованы для испытания в КСИ.

4.2. Передача локусов специфической устойчивости к фузариозу колоса от Sumai 3 в коммерческие сорта НЦЗ им. П.П. Лукьяненко

Фузариоз колоса (ФК) – одно из самых вредоносных грибных заболеваний пшеницы, вызывающее значительное снижение урожайности и качества зерна. Зараженное зерно содержит микотоксины, делающие его непригодным для употребления и опасным для здоровья человека и животных. Возбудителями болезни являются более 20 видов, представляющих род *Fusarium* Link. Наиболее распространенными на территории Северного Кавказа является вид *Fusarium graminearum* Schwabe. К часто встречающимся в южном регионе России грибам

можно также отнести *F. verticillioides* (Sacc.) Nirenberg и *F. proliferatum* (Matsushima) (Аблова и др., 2014; Гагкаева и др., 2018).

Эффективным, экономичным и экологически безопасным способом борьбы с данной болезнью является создание устойчивых сортов. Устойчивость пшеницы к ФК – сложный количественный признак, контролируемый множеством генов с основными и/или второстепенными эффектами (Liu et al. 2003; Buerstmayr et al. 2009). Разработка различных молекулярных маркеров значительно облегчила генетические исследования и способствовала обнаружению QTL (локусов количественных признаков) устойчивости к ФК. На сегодняшний день из широкого диапазона источников устойчивости выявлено более 200 QTL-локусов устойчивости к фузариозу на всех из 21 пары хромосом гексаплоидной пшеницы, однако только 22 из них были идентифицированы во множественных картированных популяциях и считаются стабильными QTL (Buerstmayr et al. 2009). Основной QTL локализованный на хромосоме 3BS (син. Qfhs.ndsu-3BS, обозначенный как *Fhb1*), передан в мягкую пшеницу от сорта Sumai 3 и часто применяется в различных генетических фонах (Anderson et al. 2007; McCartney et al. 2007). Хотя у пшеницы доступны различные источники устойчивости, селекция на устойчивость к фузариозу колоса с помощью классических методов является дорогостоящей и требует значительных затрат времени (Mardi et al., 2005). Картирование QTL, связанных с устойчивостью к ФК, и разработка молекулярных маркеров для MAS может использоваться для ускоренного отбора и создания сортов, устойчивых к данной болезни (Anderson et al., 2007). ДНК - маркеры, тесно сцепленные с *Fhb1*, были идентифицированы в нескольких исследованиях с использованием различных картирующих популяций (Lin et al., 2004; Mardi et al., 2006; Anderson et al., 2007;). Некоторые из них, такие как *Xumn10*, фланкированные маркерами *Xgwm533* и *Xgwm493*, рекомендованы для MAS (Liu et al. 2003).

В НЦЗ им. П.П. Лукьянеко проводится большая работа по созданию устойчивого к ФК селекционного материала (Аблова, 2008). Отделом селекции и семеноводства пшеницы и тритикале созданы линии на основе сортов Дельта и Дея, обладающих неспецифической устойчивостью, и сорта Sumai 3, общепризнанного

донора специфической устойчивости к фузариозу колоса. Данная группа линий была протестирова с помощью микросателитных маркеров *Xgwm533* и *Xgwm493*, разработанных Anderson и др., (2001) для идентификации присутствия локуса QFhs.ndsu-3BS. Характеристика части из них по наличию локуса QFhs.ndsu-3BS и по поражению фузариозом представлена в таблице 51.

Таблица 51. Идентификация локуса QFhs.ndsu-3BS и поражение фузариозом колоса у линий мягкой пшеницы, 2011г., (Беспалова и др., 2012)

Сорт, линия	Комбинация	Специфичный фрагмент	Степень поражения		
			по колосу	по зерну	
			балл / тип	балл	%
Sumai 3, ст.		+	1 / VR	3	2,6
13–04m/f1	Дея9/Sumai 3	-	1 / VR	3	6,4
13–04m/f6	Дея9/Sumai 3	-	1–2 / VR	3	3,9
13–04m/f8	Дея9/Sumai 3	-	5–9 / S	3	9,6
13–04m/f9	Дея9/Sumai 3	-	1 / VR	2	1,1
13–04m/f10	Дея9/Sumai 3	+	1 / VR	3	5,9
170m/f1	Дельта/Sumai 3//Дельта	-	1 / VR	3	4,4
170m/f2	Дельта/Sumai 3//Дельта	-	1–2 / VR	1	0,0
170m/f3	Дельта/Sumai 3//Дельта	гет./+	1–3 / R	3	6,5
170m/f4	Дельта/Sumai 3//Дельта	-	1–2 / VR	3	4,3
170m/f5	Дельта/Sumai 3//Дельта	-	1–2 / VR	3	2,3
170m/f6	Дельта/Sumai 3//Дельта	-	1 / VR	3	4,5
170m/f7	Дельта/Sumai 3//Дельта	-	1 / VR	4	14,2
170m/f11	Дельта/Sumai 3//Дельта	-	1 / VR	4	16,0
170m/f12	Дельта/Sumai 3//Дельта	+	1 / VR	3	2,9

Примечание - «–», «+» отсутствие, присутствие фрагмента, «гет./+» – гетерогенное присутствие фрагмента, «S» – восприимчивый тип реакции, «R» – устойчивый тип реакции, «VR» – высокоустойчивый тип реакции.

Большинство линий проявляют высокую устойчивость колоса (VR), на уровне сорта Sumai 3 с баллом 1 или 1-2. По степени поражения зерна линии также находились на уровне этого сорта. По всей видимости постоянный отбор в условиях искусственного инфекционного фона способствовал к выбраковке неустойчивых форм. В тоже время, оставалась не ясной генетическая природа устойчивость в линиях, которая могла быть обусловлена специфической устойчивостью от Sumai 3 или неспецифической от сортов Дельта и Дея (Беспалова, 2012). Эту задачу удалось решить с помощью ДНК-маркеров, а кроме того отобрать перспективные линии 13–04m/f10, 170m/f12, в которых были идентифицированы локусы, переданные от Sumai. Эти линии вовлечены в селекционный процесс для создания сортов, устойчивых к фузариозу колоса. Для линии 170p/f3 установлено наличие только одного маркера *Xgwm493*, в то же время она проявляла устойчивость к болезни. В линиях 13–04m/f1, 13–04m/f6, 13–04m/f9, 170m/f1, 170m/f2, 170m/f4, 170m/f5, 170m/f6, 170m/f7 и 170m/f11 относительная устойчивость могла быть передана от сортов Дельта и Дея.

Позднее, была начата работа по передаче локусов специфической устойчивости от Sumai 3 в коммерческие сорта собственной селекции. Для осуществления этой задачи были проведены серии скрещиваний с сортами мягкой пшеницы Васса, Кума, Фортуна, Краснодарская 99. Особенность методологии заключалась в том, что на ранних этапах, начиная с F_2, проводили генотипирование образцов одновременно с отбором по фенотипу. То есть выявляли растения, несущие маркеры *Xgwm533* и *Xgwm493*, которые имели фенотип, приближённый к рекуррентным сортам. Оценка по фенотипу позволила отобрать около 400 растений. После уборки и обмолота растений, выращенных на естественном инфекционном фоне, в полученных от каждой популяции образцах, визуально выявляли число фузариозных зерен с видимыми признаками повреждения (зерно щуплое, белёсое, с розовой окраской) (рис. 49). Затем потомство популяций от скрещивания с 4 сортами было генотипировано с использованием маркеров *Xgwm533* и *Xgwm493* для отбора рекомбинантных по данным маркерам растений (рис.50).

Рисунок 49. Здоровое (1) и пораженное (2,3) фузариозом зерно, (2012 г.)

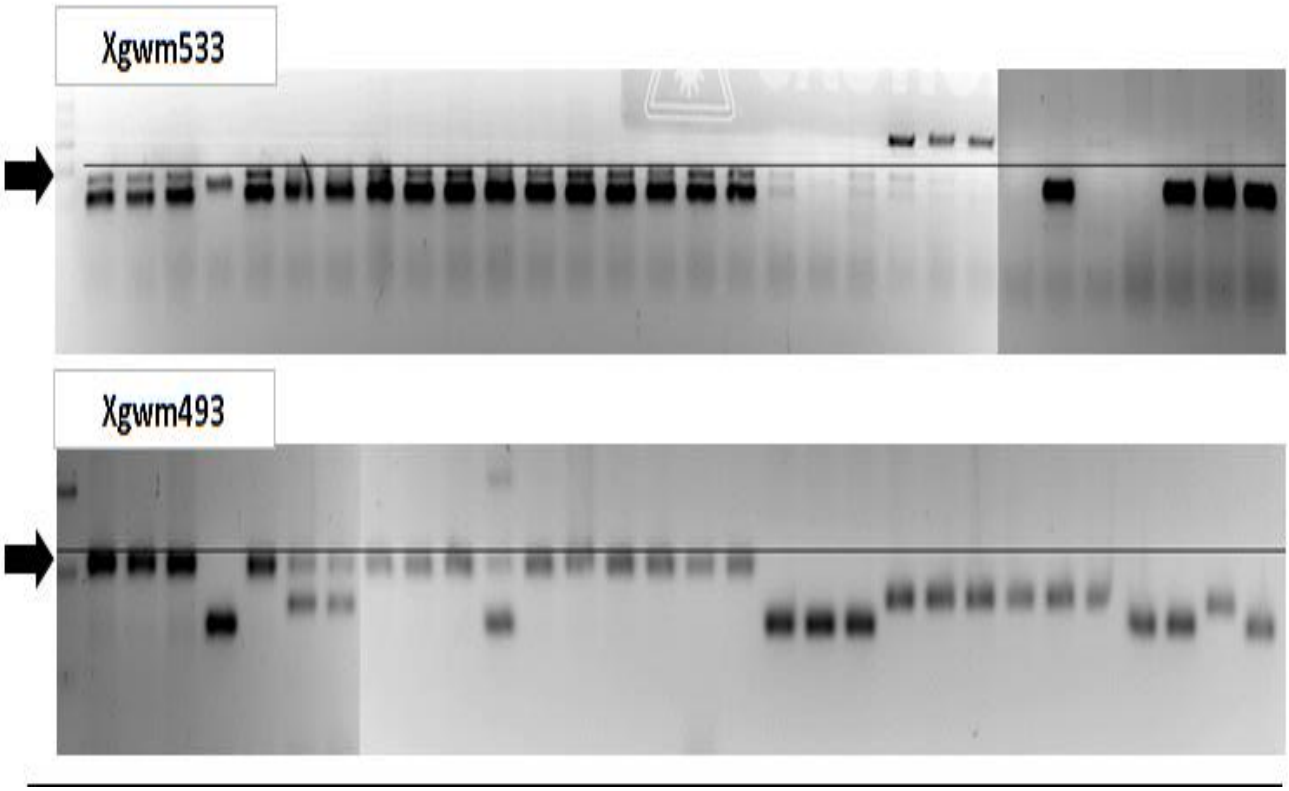


Рисунок 50. Электрофореграмма продуктов амплификации с использованием маркеров *Xgwm533* и *Xgwm493*, сцепленных с локусом QFhs.ndsu-3BS. Растения F_2 комбинация скрещивания Фортуна x Sumai 3

В результате проведенной работы было выявлено 238 растений гомозиготных по обоим маркерам *Xgwm533* и *Xgwm493*, 47 растений несли один из маркеров, а 99 образцов не имели таковых. На рисунке 51 показаны сводные данные по четырем популяциям, полученные при оценке степени поражения зерна фузариозом колоса. У растений, несущих оба маркера (фланкирующие локус QFhs.ndsu-3BS), средний балл составил 3,4 при интервале (3,2-3,6). В образцах, у которых присутствовал только один из маркеров, средний балл составил 4, а максимальное значение степени поражения – 4,6 баллов. Средняя оценка поражения по зерну у растений без идентифицированных маркеров составила 5 баллов.

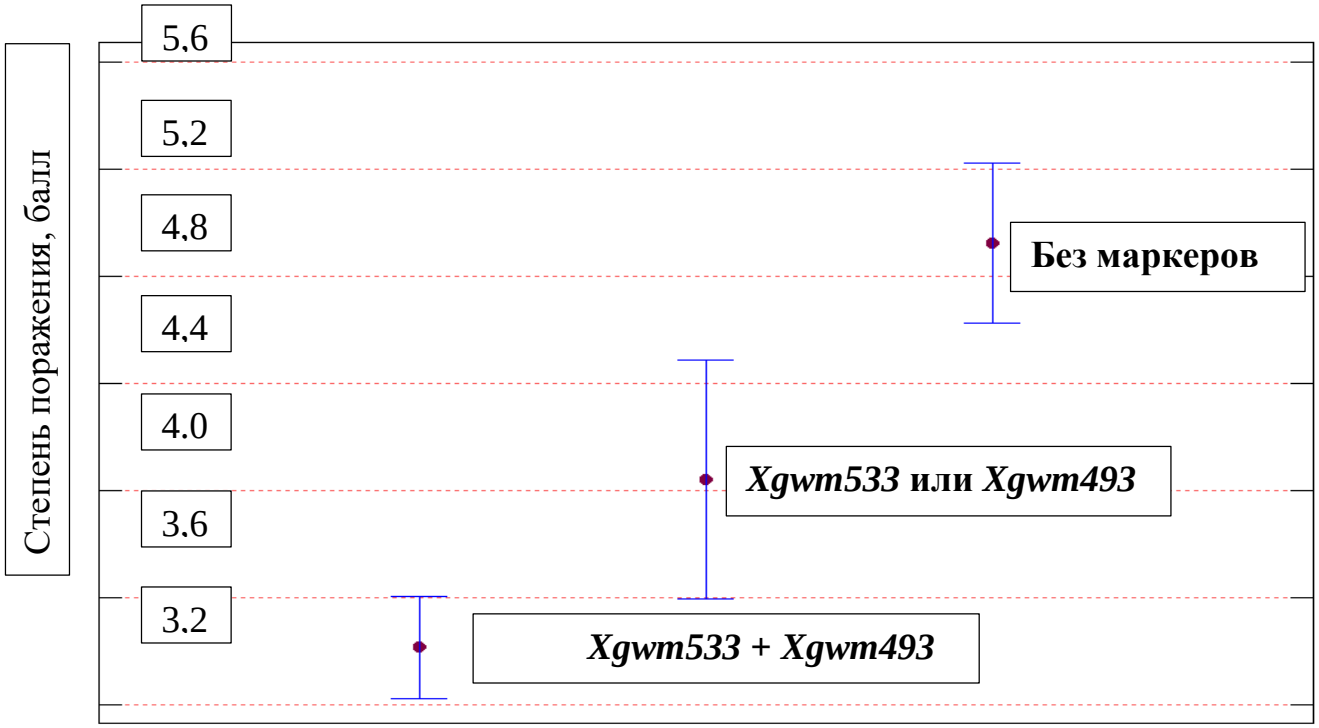


Рисунок 51. Сводные данные по оценке степени поражения зерна растений пшеницы фузариозом колоса в зависимости от наличия или отсутствия маркеров *Xgwm533* и *Xgwm493*, *сцепленных с* локусом *Fhb1*

Таким образом, на данном этапе работы нам удалось отобрать растения F_2, несущие маркеры *Xgwm493* и *Xgwm533* с хорошей оценкой по степени поражения зерна. В дальнейшем планируются работы по искусственной инокуляции растений пшеницы грибом *F. graminearum* и проведение фенотипического и маркерного контроля на искусственном инфекционном фоне.

4.3. Передача нуль-аллелей генов *Wx* в сорта мягкой пшеницы

К числу наиболее актуальных и приоритетных задач селекции мягкой пшеницы относится создание сортов с улучшенными технологическими свойствами зерна. Особое внимание, при этом, уделяется контролю генов, кодирующих синтез амилозы в крахмале. Фермент, ответственный за синтез амилозы в пшенице, представляет собой связанную с гранулами крахмал-синтазу (GBSSI), которая кодируется тремя гомологичными генами *Wx*. Мягкая пшеница с одним или двумя нефункциональными генами (нуль-аллелями) синтезирует крахмал с низким содержанием амилозы, обладающий рядом характеристик, улучшающих хлебопекарные и мукомольные свойства пшеницы. Крахмал с пониженным содержанием амилозы более чувствителен к механическому воздействию, обладает повышенной водопоглотительной способностью и амилолитической активностью муки. Кроме того, снижение содержания амилозы положительно влияет на увеличение срока годности хлебобулочных изделий.

Ранее Климушиной с соавторами (2012) с применением ДНК-маркеров проводилось изучение аллельного состояния генов *Wx* у ряда сортов и линий пшеницы, созданных в Краснодарском НЦЗ. Авторами было показано, что большинство исследуемых сортов несут аллели дикого типа, не оказывающих влияние на содержание амилозы в крахмале. Полученные Климушиной и др., (2012) результаты стали основанием для начала работ по переносу нуль-аллелей генов *Wx* в коммерческие сорта мягкой пшеницы селекции НЦЗ.

Для передачи нуль-аллелей использовали мутантные гексаплоидные формы PI: (номера 619381, 619384, 619376, 619386, 619377, 619378) у которых синтез функционального *Waxy*-белка отсутствует. Данные формы пшеницы были любезно предоставлены отделением CIMMYT (Турция) в рамках сотрудничества по обмену селекционным материалом. Мутантные по генам *Wx* формы PI созданы в Национальном центре по исследованию гермоплазмы зерновых культур (USDA-ARS, США) на основе сортов мягкой пшеницы Bai Huo китайской селекции, носителя нуль-аллеля гена *Wx-D1*, а также сортов Kanto 107 и Ike селекции США – носителей нуль-аллелей генов *Wx-A1* и *Wx-B1* соответственно. В

качестве реципиентов использовали сорта Старшина, Васса, Утриш, Сила, Есаул, Кума селекции НЦЗ им. П.П. Лукьяненко и сорт Коротышка селекции Белгородского научно-исследовательского института сельского хозяйства. Комбинации скрещиваний изучаемых линий приведены в таблице 52.

Таблица 52. Номер и расшифровка комбинации скрещивания полученных линий

Название	Комбинация
К.54	(PI619381/Коротышка)×Старшина
К.55	(PI619384/Коротышка)×Старшина
К.56	(PI619376/Васса)×Васса
К.58	(PI619384/Утриш)×Утриш
К.59	(PI619384/Коротышка)×Сила
К.60	(Есаул/PI619386//Васса)×Васса
К.61	Табор×(PI619381/Коротышка/Старшина)
К.62	Гром×(PI619378/Коротышка/Старшина)
К.70	(Есаул/PI619381)×Есаул
К.71	(Есаул/PI619377)×Кума

Данный этап нашей работы, как и в случае передачи генов устойчивости к листовой ржавчине, представлял вариант маркер-опосредованного беккросса, при котором отбирались растения, наиболее близкие по фенотипу к сортам-реципиентам и несущие нулевые аллели от используемых доноров. В результате был получен селекционный материал, включающий 502 линии мягкой пшеницы поколения F_6, который с помощью ДНК-маркеров был изучен по аллельному состояние генов *Wx-A1*, *Wx-B1*, *Wx-D1*(Davoyan et al., 2014). Главная задача этой работы заключалась в отборе ценных генотипов, несущих как отдельные нуль-аллели, так и их комбинации для последующего их вовлечения в селекционный процесс, направленный на получение сортов с улучшенными технологическими

качествами зерна. Число изученных образцов по каждой комбинации скрещивания, а также количество выявленных аллелей приведено в таблице 53.

Таблица 53. Количество линий с выявленными нуль-аллелями *Wx-A1b*, *Wx-B1b*, *Wx-D1b* и аллелем *Wx-B1e*

Комбинация скрещивания	Кол-во линий, шт.	Количествово линий с аллелями			
		Wx-A1b	*Wx-B1b*	*Wx-B1e*	*Wx-D1b*
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	-	-		-
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	502	122	10	108	101

Для определения аллельного состояния гена *Wx-A1* применяли молекулярный маркер AFC/AR2, созданный T. Nakamura с коллегами (2002). По итогам работы с ним, нуль-аллель гена *Wx-A1b* был выявлен у 122 линий, тогда как у остальных обнаружен аллель *Wx-A1a* (дикий тип). Образцы, несущие аллель *Wx-A1b* идентифицированы во всех комбинациях скрещиваний за исключением комбинации К.59 и К.60. Наличие нуль-аллеля *Wx-A1b* подтверждено во всех используемых донорах - формах PI.

Идентификацию аллельного состояния гена *Wx*-B1 проводили с применением двух молекулярных маркеров. На первом этапе линии пшеницы анализировались с помощью маркера, разработанного McLauchlan с коллегами

(2001) (рис. 52а). Затем образцы с выявленными нуль-аллелями *Wx-B1b*, были подвергнуты повторному скринингу с помощью маркера, предложенного Vanzetti с коллегами (2009) (рис. 52б). Это обусловлено тем, что при использовании первого маркера невозможно различить функциональный аллель *Wx-B1e*, отличный от дикого типа и нуль-аллель *Wx-B1b*. Тогда как, работа со вторым маркером осложняется тем, что в случае нуль-аллеля амплификация отсутствует и это может приводить к ошибкам при некачественном выделении ДНК и ингибировании ПЦР в отдельных образцах» (Климушина и др., 2013).

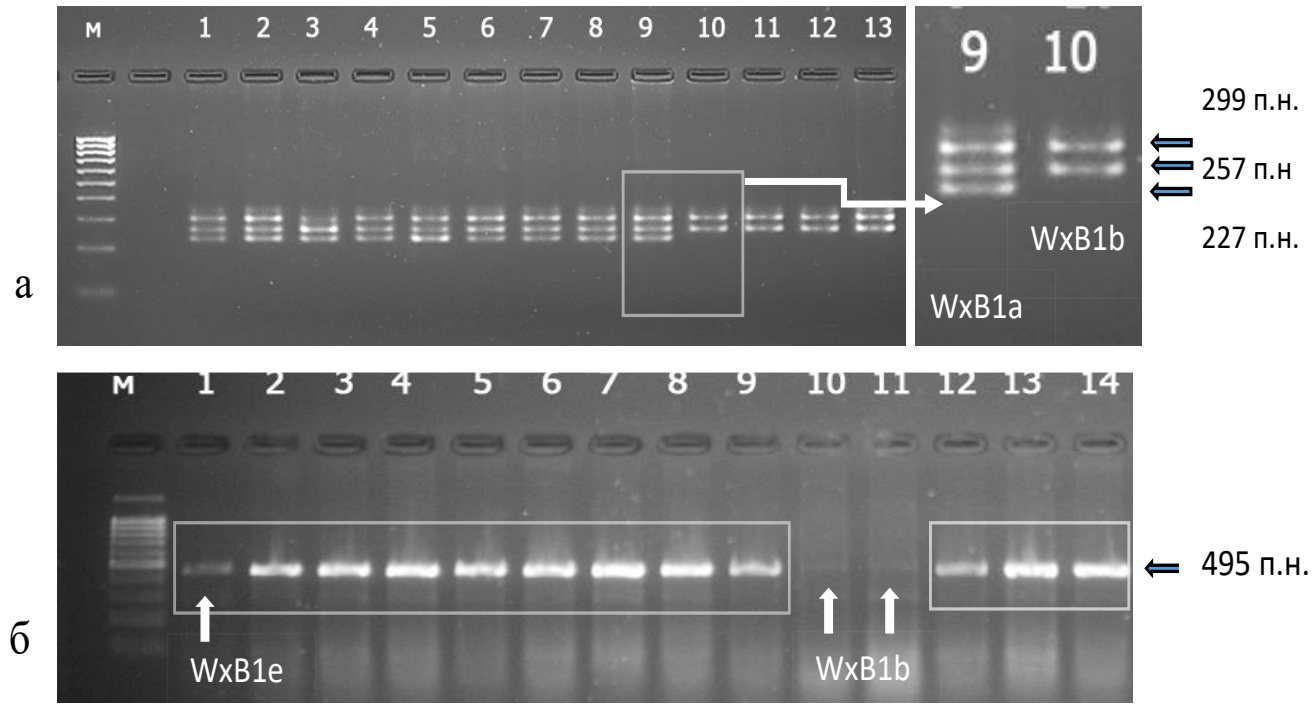


Рисунок 52. Электрофореграмма продуктов ПЦР с праймерами: а – 4F и 4R. 1–12 – линии комбинации скрещивания № 54; 13 – К+ (PI619381); б – *Wx-B1L* и *Wx-B1R*. 1 – К+ (PI619381); 2–9; 12–14 – линии комбинации скрещивания № 54; 10 – мутантная форма PI619377; 11 –PI619378. М – маркер молекулярного веса.

По результатам применения двух маркеров, нуль-аллель *Wx-B1b* выявлен у линии КЛ.56-12, полученной из комбинации скрещивания К.56, у четырех линий комбинации К.62 и пяти линий комбинации К.71. При этом было обнаружено, что из шести, используемых в качестве доноров, мутантных форм аллель *Wx-B1b* несут

только три: PI619376, PI619377, PI619378. Функциональный аллель *Wx-B1e*, отличный от *Wx-B1a*, идентифицирован у 108 линий. В комбинациях К.56, К.59, К.62, К.71 линий с этим аллелем не обнаружено.

У 101 линии идентифицирован нуль-аллель *Wx-D1b*, причём образцы с таковым были отобраны во всех комбинациях скрещивания, за исключением К.59. Наиболее часто аллель *Wx-D1b* встречался в линиях, полученных из комбинации скрещивания К.70.

В результате проделанной работы были отобраны линии с комбинациями нуль-аллелей генов *Wx* (табл. 54).

Таблица 54. Количество линий с выявленным сочетанием аллелей генов *Wx*, шт.

Комбинациия скрещивания	*Wx-A1b* + *Wx-B1e*	*Wx-A1b* + *Wx-D1b*	*Wx-B1e* + *Wx-D1b*	*Wx-A1b* + *Wx-B1e* + *Wx-D1b*	*Wx-A1b* + *Wx-B1b* + *Wx-D1b*
К.54	9			15	
К.55	17	2		22	
К.56					1
К.58		19			
К.61	5	3	1		
К.62		3			
К.70		2			
К.71		1	23		
Всего	26	30	24	37	1

Присутствие нуль-аллелей (*Wx-A1b* + *Wx-D1b*) обнаружено у 19 линий комбинации скрещивания К.58. Данную комбинацию аллелей также несли по 3 линии в комбинациях К.61 и К.62, 2 линии комбинации К.70 и 1 линия КЛ.92-28 в комбинации К.71. У линии КЛ.56-12, полученной от скрещивания мутантной формы PI619376 с сортом Васса (комбинация скрещивания К.56) выявлено наличие

трех нуль-аллелей (*Wx-A1b*+*Wx-B1b*+*Wx-D1b*), что соответствует полностью *Wx*-пшеницам. 37 линий, сочетали присутствие аллеля *Wx-B1e* с нуль-аллелями (*Wx-A1b* + *Wx-D1b)*. У 26 линий идентифицирована комбинация (*Wx-A1b*+*Wx-B1e***),** 24 линии несли сочетание аллелей (*Wx-B1e*+*Wx-D1b*).

Следует отметить, что передача нуль-аллеля *Wx-A1b* в линии комбинаций скрещивания К.54, К.55, К.61, К.62 могла произойти как от используемых в качестве доноров мутантных форм PI619381, PI619384 и PI619378, так и от сорта Старшина. По данным Климушиной и др. (2012), этот сорт служит носителем нуль-аллеля *Wx-A1b*. В случае линий, полученных при комбинации скрещивания К.56, К.58, К.70, К.71, аллель *Wx-A1b* передан от доноров PI619376, PI619384, PI619381 и PI619377 соответственно. Дивашук и др., (2011) показали, что сорт мягкой пшеницы Коротышка, в котором ранее ошибочно был идентифицирован нуль-аллель *Wx-B1b*, служит носителем функционального аллеля *Wx-B1e*. Следовательно, этот сорт может быть донором передачи аллеля *Wx-B1e* в линиях, полученных с его участием (комбинации скрещивания К.54, К.55, К.61). Этот аллель также мог быть передан от форм PI619381 и PI619384, а в случае комбинации скрещивания К.70 – только от PI619381. Донорами привнесения аллеля *Wx-B1b* у 10 отобранных линий, служат мутантные формы PI619376, PI619377 и PI619378, а в случае аллеля *Wx-D1b* – PI619381, PI619384, PI619386, PI619377, PI619378, так как ни один из учавстовавщих в скрещиваниях сортов пшеницы не является их носителем. Таким образом, с помощью ДНК-маркеров были отобраны линии мягкой пшеницы, несущие как единичные нуль-аллели генов *Wx*, так и их комбинации. Использование молекулярных маркеров для определения аллельного состояния генов *Wx-A1*, *Wx-B1* и *Wx-D1* может стать основополагающим методом для селекции по данному признаку.

Полная технологическая оценка дана нескольким перспективным линиям и стандартным сортам (табл. 55). Полученные результаты показывают, что линии, несущие нуль-аллель *WxA1b* (линии: КЛ.88-17, КЛ.89-1) или *WxB1b* (линии: КЛ.92-32, КЛ.68-1), а также комбинацию 2х нуль-аллелей (линия КЛ.92-28) в целом характеризуется повышенным содержанием белка и клейковины.

Таблица 55. Характеристика образцов мягкой пшеницы по технологическим качествам зерна, (2019 г.)

Название образца	Гаплотип Нуль-аллель *Wx*-гена	Зерно		Мука				Хлеб			
		Содержание белка, %	Содержание клейковины, %	Показатели альвеографа	Показатели фаринографа			Объёмный выход хлеба см^3	Эластичность, балл	Пористость, балл	Общая хлебопекарная оценка, балл
				Сила Муки е.а.	Водопоглащающая способность, %	Разжижение теста е.ф.	Валориметрическая оценка				
КЛ.88-17	*Wx-A1b*	15,5	29,8	277	66,6	100	86	840	5	4	4,7
КЛ.89-1	*Wx-A1b*	15,5	30,3	279	63,9	105	72	950	5	3	4,7
КЛ.92-28	*Wx-A1b* + *Wx-D1b*	15,8	29	198	62,7	100	62	890	5	4	4,8
КЛ.92-32	*Wx-B1b*	15,1	28	299	64,7	85	78	870	5	4,5	4,9
КЛ.68-1	*Wx-B1b*	18,3	37	226	76,8	190	72	1000	1	2	3,5
Старшина	*Wx-A1b*	15,1	26,7	307	64,2	95	88	860	5	5	4,8
Таня	*Wx-A1a*	14,1	24,2	180	62,1	85	48	750	4	3,5	4,5

По показателю содержания белка, линии КЛ.88-17, КЛ.92-32, КЛ.89-1 КЛ.92-28, находились на уровне сорта Старшина и незначительно превышали сорт Таня. В то время как по содержанию клейковины все линии имели значительно лучшие показатели, по сравнению с стандартными сортами. Наиболее высокие значения, получены для линии КЛ.68-1 с нуль-аллелем *WxB1b* (белок-18,3%, клейковина-37%). По силе муки, отобранные линии за исключением КЛ.92-28, 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. По показателю объёма выход хлеба линии КЛ.89-1, КЛ.92-28, КЛ.68-1, значительно превышали таковой у сорта Старшина. Вероятно, оптимальное сочетание показателей разжижения и высокой валориметрической оценки, вносит вклад в формирование высокообъемного хлеба с высокой общей хлебопекарной оценкой, которая у линии КЛ.92-28 находилась на уровне, а в случае КЛ.92-32 превышала стандартный сорт Старшина. Хлебопекарная оценка у линий КЛ.88-17, КЛ.89-1, с нуль-аллелем *Wx-A1b*, была выше сорта Таня, но уступала таковой у сорта Старшина.

Нужно отметить, что созданные линии, которым были переданы нуль-аллели *Wx*-генов представляют большой интерес для селекционных программ, направленных на улучшение технологических качеств зерна и получение сортов мягкой пшеницы с новыми свойствами крахмала. Так, например, образцы пшеницы с нуль-аллелем *Wx-B1b* вследствии пониженного содержания амилозы отличаются высокими объемами набухания и высокой пиковой вязкостью склеивания, что делает их пригодными для производства специальных видов лапши, таких как удон или рамен. Известно, что применение австралийских сортов мягкой пшеницы для производства японской лапши удон частично обусловлена низким уровнем амилозы в этих сортах (Oda et al., 1980; Toyokawa et al., 1989). Установлено, что у большинства из них отсутствует белок *Wx-B1* (Yamamori et al., 1994). В тоже время в нашем случае наиболее высокая оценка по общим хлебопекарным качествам была получена для линии КЛ.92-32, несущей нуль-аллель*Wx-B1b* (рис. 53а). Хорошие показатели по технологическим качествам зерна выявлены при

комбинации аллелей (*Wx-A1b* и *Wx-D1b*), идентифицированной в линии КЛ.92-28 (рис. 53б).

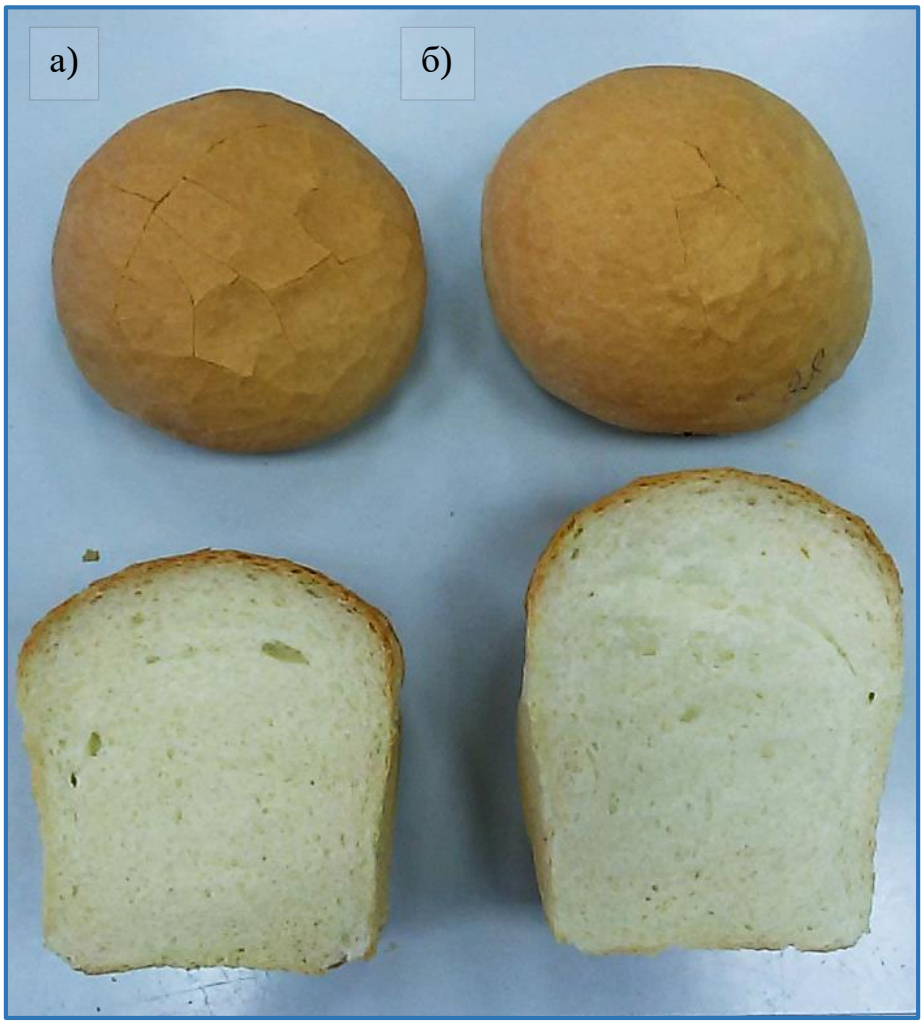


Рисунок 53. Форма хлеба: а) линия КЛ.92-32 (аллель *Wx-B1b*); в) линия КЛ.92-28 (аллели *Wx-A1b*, *Wx-D1b*).

Особенности крахмала полностью *Wx*-пшениц, форм с тремя нуль-аллелями по *Wx*- генам, не подходят для использования в производстве лапши, но могут быть полезны для промышленных целей. Хлеб, полученный из такой пшеницы имеет тёмный цвет и плохую структуру крошки, а мука - низкий удельный объем и липкую структуру мякиша и не подходит для выпечки хлебобулочных изделий (Hayakawa et al., 2004). Однако применение полностью *Wx*-пшениц целесообразно в смесях обычной муки для её улучшения, это увеличивает объем испечённого хлеба и весовой выход конечного продукта. Кроме того, включение *Wx* крахмала

приводит к сохранению большей влажности хлебной крошки и увеличению срока годности выпечки. Однако стоит отметить, что по мере увеличения содержания амилопектина в крахмале расширение буханки увеличивается, но структура крошки становится всё более неустойчивой и разрушается. Следует отметить, что оптимльное содержание муки *Wx*-пшеницы, которое не оказывает отрицательных изменений качества хлебобулочного изделия, составляет до 30%.

Таким образом, изучение аллельных вариантов генов *Wx* является важным этапом для селекции сортов мягкой пшеницы с измененным составом крахмала без его химической модификации. В результате проведенной работы отобран ценный исходный материал для селекции мягкой пшеницы с улучшенными технологическими качествами зерна, который на данный момент изучается в различных селекционных питомниках.

4.4. Изучение аллельного состава генов *Vrn-1* и *Ppd-1* у линий мягкой пшеницы

Продолжительность и структура вегетационного периода растений мягкой пшеницы – одна из важнейших биологических характеристик, определяющих хозяйственную ценность сорта и его пригодность для возделывания в различных климатических зонах. Переход растений пшеницы от вегетативного развития к генеративному является важнейшим этапом онтогенеза, который оказывает влияние на многие важные признаки растения. Как уже отмечалось в главе 3.3.4, на процесс роста и развития мягкой пшеницы в условиях конкретной среды, главным образом, оказывают влияние генетические системы *Vrn* и *Ppd* (Stelmakh et al., 1998; Cockram et al., 2007).

Комбинация аллельных вариантов генов *Vrn* и *Ppd* влияет на продолжительность вегетационного периода, время начала колошения и скорость развития растений, структуру урожая, морозо- и зимостойкость, (Stelmakh et al., 1993). Для растений пшеницы раннее созревание является одним из основных механизмов предотвращения последствий поражения фитопатогенами, разрушительного действия высоких летних температур и засухи.

По этой причине, изучение селекционных образцов мягкой пшеницы с целью формирования коллекции, несущей аллельное разнообразие по генам *Vrn* и *Ppd*, представляет большой интерес для селекционной практики.

Исходя из существующих различий по срокам колошения, выделяют раннеспелые, среднеранние, среднеспелые, среднепоздние и позднеспелые сорта пшеницы. Основное влияние на этот признак оказывает ген *Ppd-D1*, определяющий фотопериодическую чувствительность (Beales et al., 2007). Однако сроки колошения гексаплоидных пшениц при коротком и длинном дне зависят и от аллелей генов *Vrn*, определяющих потребность в яровизации. При этом, наибольшее влияние на её фенотип, оказывают гены гомеологической серии *Vrn-1* (Muterko et al. 2015a).

В настоящее время, для каждой конкретной агроклиматической зоны необходимо проводить оптимальный подбор по времени колошения, это позволит нивелировать влияние отрицательных абиотических и биотических факторов и может способствовать увеличению продуктивности возделываемых сортов. В следствии, постоянного изменения климатических условий, и для минимизирования потерь при неблагоприятном фоне, целесообразно возделывание мозаики сортов, различающихся по времени колошения (Романенко, и др. 2005).

Таким образом, изучение аллельного разнообразия и особенностей регуляции генов *Vrn-1* и *Ppd-D1* имеет важное значение для селекции пшеницы, поскольку их функционирование регулирует важные агрономические признаки, определяющие адаптивность и урожайность культуры в условиях окружающей среды конкретной географической локации.

С использованием аллель-специфичных праймеров проведен анализ аллельного состава генов, определяющих фотопериодическую чувствительность и потребность в яровизации у 286 линий мягкой пшеницы факультативного и ярового образа жизни, селекции НЦЗ им. П.П. Лукьяненко (таблица 56). Следует отметить, что отобранные для анализа линии ранее были изучены в КСИ (Конкурсное сортоиспытание). Следовательно, аллельный состав этих образцов отображает результаты предыдущих отборов, направленных на получение генотипов,

максимально адаптированных к условиям конкретного эколого-географического региона культивирования.

Таблица 56. Исследование генов гомеологической серии *Vrn-1* и *Ppd-D1* в изучаемом селекционном материале альтернативного образа жизни

Ген	Аллельное состояние	Количество образцов	
		шт.	%
Vrn-A1	*Vrn-A1a*	10	3,5
	Vrn-A1b	276	96,5
Vrn-B1	*Vrn-B1a*	17	6,0
	Vrn-B1b	265	92,7
	Гетерозиготность	4	1,3
Vrn-D1	*Vrn-D1a*	160	56,0
	Vrn-D1b	104	36,4
	Гетерозиготность	22	7,6
Ppd-D1	*Ppd-D1a*	199	70
	Ppd-D1b	64	22
	Гетерозиготность	23	8

При изучение аллельного разнообразия гена *Vrn-A1* было выявлено, что 96,5 % образцов содержат рецессивный аллель гена *Vrn-A1b*. Доминантный аллель *Vrn-A1a*, выявлен только у 10 линий, что составляет 3,5% от общего числа. Известно, что этот аллель содержит инсерцию MITE в области промотора и встречается у многих сортов гексаплоидной пшеницы. Схожие результаты получены при определении аллельного разнообразия по гену *Vrn-B1*. Около 93 % линий несут рецессивный аллель *Vrn-B1b*. Доля образцов с аллелем *Vrn-B1a* составила 6%. Идентифицированы четыре линии с выявленной в них гетерозиготностью.

Изучение аллельного разнообразия по гену *Vrn-D1* в отобранных линиях показало, что 56% линий имели доминантный аллель *Vrn-D1a,* а 36,4 % образцов – рецессивный - *Vrn-D1b.* У 22 линий выявлена гетерозиготность по гену *Vrn-D1*.

Гены *Ppd-D1*, *Ppd-B1* и *Ppd-A1* расположены на гомеологичных хромосомах 2-й группы и контролируют реакцию на фотопериод у мягкой пшеницы (Scarth, 1984). По силе влияния на чувствительность к фотопериоду *Ppd-1* гены находятся в следующем порядке: *Ppd-D1>Ppd-B1>Ppd-A1*, однако в отдельных случаях эффект аллеля *Ppd-B1* сопоставим *с Ppd-D1* (Worland et al., 1998; Nishida et al., 2013). J. Beales с соавт. (2007) разработали диагностические маркеры для для выявления аллельного состояния гена *Ppd-D1*. Доминантный аллель этого гена *Ppd-D1a* обусловливает нейтральную реакцию на длину дня, в отличие от рецессивного аллеля *Ppd-D1b*.

В процессе исследования гена *Ppd-D1* было выявлено, что 70 % образцов несут доминантный аллель *Ppd-D1a*, который обусловливает нейтральную реакцию на длину дня. Рецессивный аллелль *Ppd-D1b* идентифицирован у 22% линий. Таким образом, данные линии проявляют чувствительность к длине дня. Выявлены 23 линии, гетерозиготные по гену *Ppd-D1*.

Согласно идентифицированным аллелям генов *Vrn-1* и *Ppd-1*, проанализированные образцы распределились по следующим гаплотипам (табл. 57). Наибольшее количество образцов несут гаплотип 7 (123 образцов), гаплотип 9 (44 образца) и 21 (30 образцов). Гаплотипы с 1 по 9 несут доминантный аллель гена *Ppd-D1a*, и не чувствительны к продолжительности светового периода суток. В Краснодарском крае в условиях продолжительной теплой осени и зимы, такие генотипы (D-RDR, D-RRD) могут быстро переходить в репродуктивную фазу развития и вымерзать от возвратных морозов. Растения с гаплотипами 15-21, имеют рецессивный аллель *Ppd-D1b* и, соответственно, проявляют чувствительность к длине дня. Полный набор рецессивных аллелей R-RRR по всем изучаемым генам (гаплотип 21), идентифицирован в 30 образцах.

Таблица 57. Аллельный состав генов *Ppd-1* и *Vrn-1* у сортов и линий мягкой пшеницы альтернативного образа жизни

Гаплотип	Комбинация аллелей (гаплотип)				Число образцов
	Ppd D1	*Vrn-A1*	*Vrn-B1*	*Vrn-D1*	
1	D	D	R	R	2
2	D	D	D/R	D	1
3	D	R	D	R	11
4	D	R	D	D/R	1
5	D	R	D/R	R	1
6	D	R	D/R	D/R	1
7	D	R	R	D	123
8	D	R	R	D/R	15
9	D	R	R	R	44
10	D/R	D/R	R	R	1
11	D/R	R	D	R	3
12	D/R	R	R	D	13
13	D/R	R	R	D/R	1
14	D/R	R	R	R	5
15	R	D	R	R	5
16	R	D	D	R	1
17	R	R	D	R	1
18	R	R	D/R	D/R	1
19	R	R	R	D	23
20	R	R	R	D/R	3
21	R	R	R	R	30

Примечание - D – доминантный аллель, R – рецессивный аллель, D/R – выявлена гетерозиготность по соответствующему локусу

Комбинация аллелей D-RRR (гаплотип 9), выявлена в 44 образцах. Гомозиготное рецессивное состояние локусов *VrnA1*, *VrnB1*, *VrnD1* определяет озимый тип развития этих растений. У озимых пшениц в отсутствии яровизации невозможен переход к генеративной фазе, так как у них блокирована работа гена *Vrn-1*.

Основные отличия яровой пшеницы от озимой связаны с изменениями нуклеотидной последовательности промотора или первого интрона гена *Vrn-A1* (Yan et al., 2004). При этом, если все гомологичные гены *Vrn-1* представлены рецессивными аллелями, то у растений пшеницы проявляется озимый тип развития. Известно, что присутствие доминантных аллелей генов *Vrn-B1* и *Vrn-D1*оказывает частичное влияние на снижение потребности в яровизации, тогда как наличие доминантного аллеля гена *Vrn-A1* обуславливает полную нечувствительность растений пшеницы к ней (Pugsley, 1971).

Отобрано 5 линий (гаплотип 15) и 2 линии (гаплотип 1) у которых обнаружен доминантный аллель *Vrn-A1a.* Можно предположить, что растения с гаплотипом 1 и 2 (D-DRR, D-DD/RD) развиваются по яровому типу, при этом среди растений гаплотипа 2 в дальнейшем могут быть выделены растения с сочетанием доминантных аллелей всех генов. Наличие трёх доминантных аллелей генов *Vrn-A1*, *Vrn-B1* и *Vrn-D1* связано с повышенной скороспелостью и, как правило, снижением урожайности. У образов с гаплотипами 17 и 19, доминантные аллели генов *Vrn-B1* и *Vrn-D1*, детерминируют частичное снижение потребности в яровизации.

По данным Л.А. Беспаловой и др. (2010) в агроклиматических условиях Краснодарского края, сорта альтернативного образа жизни должны быть слабо-чувствительными к яровизации, но достаточно сильно реагировать на короткий день, ограничивая развитие (Беспалова и др., 2010). В этом аспекте гаплотипы R-RRD, R-RDR относятся к группе пшениц-двуручек, и, следовательно, их возделывание в условиях нашего региона может быть оптимальным. У всех изученных образцов выявлен рецессивный аллель хотя бы одного из генов *Vrn-1*, следовательно, в отсутствие яровизации сроки начала колошения у них увеличиваются.

Заключение к главе 4.

Таким образом, с применение ДНК-маркеров, на наличие генов устойчивости к листовой ржавчине *Lr9, Lr10, Lr19, Lr24, Lr26, Lr34, Lr37* изучено 46 сортов мягкой пшеницы селекции НЦЗ им. П.П. Лукьяненко.

С применением маркер-опосредованного беккросса созданны линии, содержащие как единичные гены устойчивости *Lr9, Lr19, Lr24* и *Lr37,* так и их комбинации. Выделено две линии М.21-кп.24, М.104-кп.24 с геном *Lr24*, а также десять линий с геном *Lr37*, которые рекомендованы для испытаний в КСИ. Выявлены линии М.77-кс.13, М.77-кс.9, М.78-кс.13, М.43-кс.8 с геном *Lr37*. Эти линии обладают устойчивостью к болезням, хорошей продуктивность и качеством, и рекомендованы для дальнейшего испытания. Отобрано 7 линий с комбинацией 2х генов и одна с пирамидой 3х генов *Lr*, которые рекомендованы для изучения в КСИ.

Отобраны растения F_2 несущие маркеры *Xgwm533* и *Xgwm493,* сцепленные с локусом устойчивости к фузариозу колоса QFhs.ndsu-3BS, при этом имеющие хорошую оценку по степени поражения зерна. В дальнейшем планируется работа по искусственной инокуляции растений пшеницы грибом *F. graminearum*, и проведения фенотипического и маркерного контроля на искусственном инфекционном фоне.

Созданы линии мягкой пшеницы, несущие нуль-аллели *Wx*-генов, которые представляют интерес для селекционных программ, направленных на улучшение технологических качеств зерна и получение сортов мягкой пшеницы с новыми свойствами крахмала.

В линиях альтернативного образа жизни (двуручки) выявлено генетическое разнообразие по аллелям генов *Vrn-1* и *Ppd-1*. Отобранные для скрининга ДНК-маркеры позволяют идентифицировать аллельные комбинации генов *Vrn* и *Ppd* в различном селекционном материале, это предоставляет селекционерам возможность целенаправленно вовлекать в селекцию исходный материал, заранее располагая информацией о его адаптационном потенциале.

5. СОЗДАНИЕ НОВЫХ СОРТОВ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ ДАНКО, КУЛИЧ, ВЫЗОВ

В настоящий период времени, в условиях изменения климата и среды культивируемых растений, усиления влияния неблагоприятных антропогенных факторов, селекция должна использовать все достижения науки и создавать сорта, устойчивые к абиотическим и биотическим стрессам, способные в полной мере использовать ресурсы среды, нюансы каждой экологической ниши (Беспалова, 2014).

В НЦЗ им П.П. Лукьяненко для решения данной задачи предложен новый подход, который заключается в создании богатого сортового многообразия. Генетическое разнообразие созданных сортов пшеницы достигается благодаря большой предбридинговой работе с культурными видами, дикорастущими сородичами, а также разнообразным экологически отдалённым исходным материалом.

На сегодняшний день, наряду с большим количеством озимых сортов каталог селекционных достижений НЦЗ им. П.П. Лукьяненко включает ряд районированных яровых сортов мягкой и твердой пшеницы, сортов двуручек (Сорта пшеницы и тритикале: каталог, 2020). Создание новых яровых сортов пшеницы с точки зрения расширения эколого-географических зон является актуальным направлением селекции НЦЗ. Также целесообразно получать сорта двуручки, адаптированные к влиянию абиотических и биотических стрессов, которые позволяют получать стабильный урожай при посеве как осенью, так и весной.

Методами экологической селекции с использованием результатов молекулярного маркирования в отделе селекции и семеноводства пшеницы и тритикале НЦЗ созданы новые сорта яровой мягкой пшеницы Данко и Кулич, а также сорт мягкой пшеницы альтернативного образа жизни (двуручка) Вызов. Новые сорта отличаются высокой продуктивностью, высоким качеством зерна,

засухоустойчивостью и жаростойкостью, устойчивостью к полеганию и большим диапазоном по продолжительности вегетации. Кроме того, они имеют широкий полиморфизм по чувствительности к длине дня и потребности в яровизации, что позволяет им адаптироваться в различных эколого-климатических зонах. Полученные сорта переданы в Государственное сортоиспытание.

5.1. Общая характеристика новых сортов мягкой пшеницы

Сорт Данко (Лютесценс 369-10 я 42) создан методом экологической селекции путем скрещивания линий двуручек Л 1341я18 и Л 1707я5 собственной селекции НЦЗ им. П.П. Лукьяненко с мексиканским яровым сортом ONIX и чешским образцом SG-S-5-01 с последующим индивидуальным отбором в F_4.

Разновидность *lutescens*. Колос цилиндрический, средней длины (8-10 см) и плотности, с короткими остевидными отростками (до 12 мм) в верхней четверти колоса, при созревании имеет различия по степени поникания колоса (от сильной до средней). Колосковая чешуя удлинённо-овальной формы, плечо слабо приподнятое, среднего размера. Зубец короткий, прямой. Киль выражен сильно. Зерно мелкое, полуудлиненной формы, красное, стекловидное. Бороздка среднего размера. Форма куста промежуточная. Лист средней ширины, зелёный, со средним восковым налётом. В период начала колошения - налива зерна 2/3 флаговых листьев имеют вертикальное положение листовых пластинок, сворачивающихся в трубочку в жаркую погоду, что косвенно свидетельствует о повышенной засухоустойчивости. Сорт короткостебельный – от 80 до 100 см в зависимости от условий года, то есть, на 15-20 см ниже стандартного сорта Курьер.

Скороспелый, выколашивается на 3-6 дней раньше яровой пшеницы Курьер, имеет слабую чувствительность к фотопериоду. Не осыпается, засухоустойчивость и жаростойкость сорта повышенные.

Сорт Кулич (Лютесценс 263-10 я 22) создан методом экологической селекции путем скрещивания линий двуручек Л1341я18 и Л 1707я5 с чешским яровым сортом GRANNY и образцом SG-S-5-01 с последующим индивидуальным отбором в F_4.

Разновидность *lutescens*. Колос от цилиндрического до слабо пирамидального, средней длины (7-9 см) и плотности, с короткими остевидными отростками (до 12 мм) в верхней четверти колоса, при созревании имеет различия по степени поникания колоса (от сильной до средней). Колосковая чешуя удлинённо-овальной формы, плечо прямое среднего размера. Зубец короткий, прямой. Киль выражен сильно. Зерно мелкое, полуудлиненной формы, красное, стекловидное. Бороздка среднего размера, слабосомкнутая**.** Форма куста промежуточная. Лист средней ширины, зелёный, со средним восковым налётом. Сорт имеет слабую чувствительность к фотопериоду. Сорт короткостебельный (от 70 до 90 см в зависимости от условий года), на 15-30 см ниже стандартного сорта Курьер.

Среднеспелый, выколашивается одновременно или на 1-2 дня раньше яровой пшеницы Курьер. Не осыпается, засухоустойчивость и жаростойкость сорта повышенные.

Сорт Вызов (Лютесценс 21-10 я 40) создан методом экологической селекции путем скрещивания линии двуручки Л94-03яБ5 собственной селекции и озимого сорта Юка с последующим индивидуальным отбором в F_4.

Разновидность *lutescens*. Форма куста промежуточная. Лист выше средней ширины, зелёный, с интенсивным восковым налётом, занимает в фазе колошения поникающее положение. Колос от веретеновидного до слабо пирамидального, средней длины (6-8 см) и плотности, с остевидными отростками (до 30 мм) в верхней четверти колоса, при созревании поникает. Колосковая чешуя удлинённо-овальной формы, плечо прямое от узкого до среднего размера. Зубец короткий, прямой. Киль выражен сильно. Зерно среднего размера, полуудлиненной формы, красное, стекловидное. Сорт проявил себя как истинная двуручка, то есть стабильно перезимовывал в поле при осеннем посеве и стабильно выколашивался и созревал при посеве весной. Обладает средней чувствительностью к фотопериоду. Сорт короткостебельный (95-105см) в озимом посеве и полу-карликовый (70-80 см) в яровом.

Среднеспелый, выколашивается и созревает одновременно или 1-2 дней позже двуручки Велена и на 3-5 дней раньше среднепоздней озимой пшеницы Юка. Засухоустойчивость и жаростойкость сорта повышенные, зимо-морозостойкость средняя – на уровне озимой пшеницы Безостая 1.

5.2. Сроки созревания и продолжительность вегетационного периода у новых сортов мягкой пшеницы

Важнейшим биологическим и хозяйственным признаком сортов пшеницы является продолжительность их вегетационного периода. У пшеницы этот признак в сильной степени коррелирует с величиной урожая. Однако характер его проявления в первую очередь определяется погодными условиями года.

Вегетационный период от всходов до хозяйственно-биологической спелости составил от 110 дней у сорта Данко до 118 дней у сорта Вызов (табл. 58).

Таблица 58. Продолжительность вегетационного периода новых сортов Данко, Кулич и Вызов, (2018-2020 гг.), весенний посев, дн.

Показатели	Данко	Кулич	Вызов	Курьер
Вегетационный период (от всходов до хозяйственной спелости)	110	113	118	114
от посева до полных всходов	16	16	13	16
от полных всходов до начала кущения (для яровых)	31	33	33	33
от начала весенней вегетации (для озимых) и от начала кущения (для яровых) до выхода в трубку	21	22	22	22
от выхода в трубку до полного колошения	23	24	37	27

Таким образом, сорта Кулич и Вызов можно отнести к группе среднеспелых. Кулич выколашивается одновременно или на 1-2 дня раньше яровой пшеницы Курьер. Сорт Вызов выколашивается и созревает одновременно или на 1-2 дня позже двуручки Велена. Вегетационный период при осеннем посеве у данного сорта составляет в среднем 247 дней, при этом сроки колошения и созревания у него на 3-5 дней раньше среднепоздней озимой пшеницы Юка.Скороспелый сорт Данко выколашивается на 3-6 дней раньше яровой пшеницы Курьер, имеет слабую чувствительность к фотопериоду. Число дней от полных всходов до начала кущения у сортов находится на одном уровне. У сорта Вызов наблюдается самый продолжительный период от выхода в трубку до полного колошения (37 дней), в качестве сравнения: для сорта Данко продолжительность этого периода составила 23 дня.

5.3. Показатели продуктивности новых сортов мягкой пшеницы Данко, Кулич, Вызов

Созданные сорта мягкой пшеницы отличаются высокой зерновой продуктивностью. Так, за три года изучения в конкурсном сортоиспытании (2018-2020 гг.) урожайность сорта Вызов при весеннем посеве составила 53,7 ц/га, и превышала таковую у сорта Курьер на 3,3 ц/га (табл. 59).

Таблица 59. Элементы продуктивности новых сортов мягкой пшеницы, 2018-2020 гг, средние данные при весеннем посеве

Показатели	Вызов	Данко	Кулич	Курьер (стандарт)
1.Урожай зерна, ц /га	53,7	60,8	55,4	50,4
2. Выход зерна, %	38	38	38	37
3. Натура зерна, г	788	787	773	781
5. Масса 1000 зерен, г	32,1	32,8	31,8	36,3

Стоит отметить, что при осеннем посеве средняя урожайность по четырём предшественникам у этого сорта составила 93,9 ц с 1 га, превысив сорт двуручку Велена на 5,2 ц/га, а озимый стандартный сорт Юка на 12,8 ц/га. Максимальную урожайность сорт показал в 2017 году в осеннем посеве: в среднем по 3-м предшественникам 108,5 ц с 1 га в (от 106,9 ц по подсолнечнику до 111,2 по кукурузе на зерно), при весеннем посеве – 97,2 ц с 1 га. Средняя урожайность сорта Данко, за три года его изучения в конкурсном сортоиспытании (2018-2020 гг.) в условиях г. Краснодара составила 60,8 ц с 1 га, превысив стандартный сорт Курьер на 8,6 ц/га. Максимальную урожайность 66,1 ц/га он показал в 2020 году. Сорт Кулич за три года изучения в конкурсном сортоиспытании (2018-2020 г.г.) в условиях г. Краснодара показал в весеннем посеве среднюю урожайность порядка 55,4 ц с 1 га, превысив стандартный сорт Курьер на 5 ц/га. Максимальную урожайность 85,4 ц/га он показал в 2017 году. По выходу зерна новые сорта находятся на уровне стандартного сорта Курьер. Масса 1000 зерен у сорта Курьер превышала таковые средние показатели у сортов Вызов, Данко и Кулич на 4,2 г, 3,5г и 4,5 г соответственно. Однако по показателю натура зерна сорта Вызов и Данко превышали стандарт на 7 и 6 г/л соответственно, а у сорта Кулич этот показатель был ниже на 4 г/л.

5.4. Мукомольные и хлебопекарные качества новых сортов мягкой пшеницы Данко, Кулич, Вызов

Полученные сорта имеют высокие технологические и хлебопекарные качества зерна, характеризуются высоким содержанием белка и клейковины (табл. 60). У сорта Данко среднее содержание белка в зерне составило 15,1%, а максимальное - 15,3% в 2019 г., клейковины 27,8%, максимальное - 28,9%. Среднее содержание белка у сорта Кулич 15,2%, максимальное - 15,7%, среднее значение содержания клейковины 27,0%, максимальное - 28,9%. Высокое среднее содержание белка 15,7 отмечено у сорта Вызов, в климатических условиях 2018 г. данный показатель у сорта составил 16,6 %. Максимальное количество белка и клейковины сорт Вызов формирует при весеннем посеве – в среднем 15,7% (до

16,7) белка, 30,8% клейковины (до 32%). По показателям альвеографа (W) созданные сорта незначительно превышают таковые для сорта Курьер и находятся в пределах от 286 единиц у сорта Данко, до 293 единиц у сорта Кулич. Данный показатель является определяющим для мукомольных качеств пшеницы, практически не зависит от климатической зоны производства пшеницы и условий ее хранения. Таким образом, показатели альвеогрофа демонстрируют высокое качество клейковины (глютена) у созданных сортов мягкой пшеницы.

Таблица 60. Характеристика сортов мягкой пшеницы, Данко, Кулич и Вызов по технологическим качествам зерна, (2018-2020 гг.), средние данные

Показатели	Сорт Данко	Сорт Кулич	Сорт Вызов	Стандарт Курьер
Содержание сырого протеина, %	15,1	15,2	15,7	14,7
Содержание сырой клейковины, %	27,8	27,1	30,8	26,6
Показатель альвеографа (W), е.а.	286	293	290	280
Валориметрическая оценка, е.в.	67	67	76	62
Число падения, сек.	729	762	685	596
Пористость хлеба, бал.	3,5	3,3	3,2	3,3
Объемный выход хлеба, $см^3$	780	765	770	733
Общая оценка качества, бал.	4,5	4,5	4,3	4,2

Новые сорта имеют высокие значения числа падения (ЧП) от 685 сек. у сорта Вызов до 762 сек. у сорта Кулич. Известно, что хорошие результаты выпечки получаются при ЧП пшеничной муки от 230 до 330 секунд. Хлеб из муки с повышенным значением ЧП получается бледным, малого объема, сухим, быстро черствеющим. Однако ЧП является важнейшим показателем, больше характеризующим ржаную муку, поскольку её хлебопекарные свойства в основном определяются состоянием содержащегося в ней крахмала. Хлебопекарные свойства пшеничной муки зависят не столько от крахмала, сколько от качества и

количества белков клейковины. Поэтому показатель ЧП для пшеничной муки не имеет такого большого практического значения, как для ржаной. Пористость хлеба находилась на уровне стандартного сорта Курьер (3,3 балла), а в случае сорта Данко незначительно превышала таковой и составляла 3,5 балла.

Отличительной особенностью сорта Кулич является естественная жёлтая окраска мякиша хлеба (как при использовании яичных желтков), генетически обусловленная наличием гена устойчивости к листовой ржавчине *Lr19*, переданного в составе пырейной транслокации.

Объёмный выход хлеба, эластичность и пористость мякиша у сортов Данко, Кулич, Вызов выше, чем у стандарта Курьер. Созданные сорта имеют достаточно высокую общую хлебопекарную оценку. У сорта Вызов (4,3 балла) она находится на уровне стандарта Курьер (4,2 балла), а в случае сортов Данко и Кулич превышала стандартный сорт – 4,5 балла.

5.5. Устойчивость новых сортов Данко, Кулич, Вызов к основным болезням мягкой пшеницы

Проведена оценка сортов Вызов, Данко и Кулич по устойчивости к ряду основных болезней мягкой пшеницы. Учёты проводились в период создания сортов в условиях естественного и искусственного заражения. В таблице 61 приведены данные 2018 - 2020 гг.

Сорт Кулич в условиях естественного заражения обладает высокой устойчивостью к листовой, жёлтой и стеблевой видам ржавчины, септориозу, мучнистой росе и фузариозу колоса. В условиях искусственного заражения были получены результаты, подтверждающие его устойчивость, однако у сорта выявлена умеренная восприимчивость к фузариозу колоса (поражение колоса 5-6 баллов, поражение зерна 4-5 баллов).

Сорт Данко, высокоустойчив к мучнистой росе, процент поражения растений в условиях естественного и искусственного заражения не превышал 5 %. Проявляет устойчивость к жёлтой ржавчине и септориозу.

Таблица 61. Иммунологическая характеристика новых сортов мягкой пшеницы, (2018-2020 гг.)

В конкурсном сортоиспытании: естественный фон	Кулич			Данко			Вызов			Курьер (стандарт)			Сорт-индикатор по поражаем. (поврежд.)		
	2018	2019	2020	2018	2019	2020	2018	2019	2020	2018	2019	2020	2018	2019	2020
видами ржавчины:															
Листовой, балл	01	01	01	2	2	2	1	2	2	2	2	1	4	4	4
Желтой, балл	01	01	1	1	2	2	2	3	2	2	3	3	4	4	4
Пыльной головнёй %	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
септориозом %	5	5	5	30	10	10	30	10	10	20	10	10	50	40	40
мучнистой росой %	0	5	0	0	5	0	5	5	10	10	20	5	60	50	60
фузариозом колоса, балл	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	5	1	7	6	6
При искусственном заражении:	Кулич			Данко			Вызов			Курьер (стандарт)			Сорт-индикатор по поражаем. (поврежд.)		
видами ржавчины:															
Листовой, балл	01	1	01	2	3	3	2	1	2	3	2	1	4	4	14
Желтой, балл	1	1	1	2	2	1	2	3	3	2	4	3	4	4	4
Пыльной головнёй %	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	44,9	46,0	48,3
Твердой головнёй %	55,1	60,2	58,4	60,8	67,7	64,2	6,9	4,5	8,1	76,4	72,6	74,3	86,5	74,8	81,0
септориозом %	5	5	5	20	20	20	10	10	0	20	10	10	60	60	60
мучнистой росой %	5	10	0	10	5	0	5	5	1	20	30	0	70	60	70
Фузариозом колоса, балл	5	6	5	5	5	4	3	3	4	6	6	6	7	7	7
Фузариозом зерна, балл	5	5	4	5	5	4	3	2	3	6	5	4	7	7	7

Сорт Данко умеренно устойчив к листовой ржавчине и к фузариозу колоса в условиях искусственного заражения. При искусственном заражения растений листовой ржавчиной выявлены образцы с типом реакции до 3 баллов.

Сорт Вызов умеренно устойчив к листовой ржавчине и фузариозу колоса. В условиях искусственного заражения умеренно восприимчив к жёлтой ржавчине. Устойчив к септориозу и к мучнистой росе.

На фоне искусственного заражения созданные сорта абсолютно не поражались пыльной головней. В тоже время у сортов Кулич и Данко наблюдалась восприимчивость к твёрдой головне. Максимальный процент поражения отмечен в условиях 2019 г. и составил 58% для сорта Кулич и 64,2% для сорта Данко. Сорт Вызов в течении испытаний проявлял устойчивость к твёрдой головне.

5.6. Генотипирование новых сортов Данко, Кулич, Вызов с применением ДНК-маркеров, сцепленных с ценными для мягкой пшеницы генами

Проведено генотипирование сортов и исходных родительских форм на присутствие ДНК-маркеров, сцепленных с генами, контролирующими устойчивость к листовой ржавчине, *Lr10, Lr26, Lr19, Lr34, Lr37*; высоту растений *Rht1, Rht2, Rht-11, Rht8*; определяющими состав крахмала *WxA1, WxB1* и *Wx D1*; контролирующими чувствительность растений к фотопериоду и яровизации *Ppd-D1* и *Vrn-1*. Полученные данные представлены в таблице 62.

Молекулярный маркер *STSLrk10*, сцепленный с геном устойчивости *Lr10*, выявлен у всех сортов – Кулич, Данко и Вызов. Сортам Кулич и Данко данный ген мог быть передан от исходной родительской формы линии SG-S-5-01. В случае сорта Данко *Lr10* мог быть передан как от сорта ONIX, так и SG-S-5-01. Для сорта Вызов присутствие маркера, сцепленного с *Lr10,* обусловлено его наличием у сорта Айвина. Присутствие маркера *Gb*, сцепленного с геном *Lr19*, установлено в сорте Кулич. Данный ген передан от сорта Паллада, в котором ранее он был идентифицирован (Давоян и др., 2014). Морфологическим маркером, подтверждающим присутствие *Lr19* у сорта Кулич, является жёлтая окраска

мякиша хлеба, генетически обусловленная наличием пырейной транслокации. Молекулярный маркер *SCM9*, разработанный для идентификации пшенично-ржанной транслокации 1BL.1RS, в состав которой входит ген устойчивости к листовой ржавчине *Lr26*, идентифицирован в сорте Вызов. Данный маркер также выявлен в сортах мягкой пшеницы Велена, Юка и Айвина, служивших родительскими формами при создании сорта Вызов. У сорта Айвина идентифицирован маркер *csLV34*, сцепленный с геном *Lr34*, однако его присутствие у сорта Вызов не установлено. STS-маркер *Ventriup/Ln2*, созданный для обнаружения гена *Lr37*, выявлен в сорте Вызов, в тоже время его наличие не идентифицировано ни в одной из родительских форм. Присутствие гена *Lr37* в сорте Вызов требует дальнейшего изучения.

Таблица 62. Результаты генотипирования сортов Данко, Кулич, Вызов и исходных родительских форм на присутствие ДНК-маркеров, сцепленных с генами *Lr10*, *Lr26*, *Lr19*, *Lr34*, *Lr37*

Образец	Анализируемые гены				
	Lr10	*Lr19*	*Lr26*	*Lr34*	*Lr37*
Кулич	*Lr10*	*Lr19*			
Паллада		*Lr19*			
SG-S-5-01	*Lr10*				
GRANNY					
Данко	*Lr10*				
ONIX	*Lr10*				
Л1707я5			*Lr26*		
SG-S-5-01	*Lr10*				
Вызов	*Lr10*		*Lr26*		*Lr37*
Велена			*Lr26*		
Юка			*Lr26*		
Айвина	*Lr10*		*Lr26*	*Lr34*	

Нуль-аллели *Wx*-генов не были выявлены. Таким образом, все образцы, включая созданные сорта Кулич, Данко и Вызов, несут аллели дикого типа, которые не оказывают влияние на соотношения амилозы и амилопектина в пшеничном крахмале.

Результаты генотипирования образцов по генам, контролирующим чувствительность растений к фотопериоду и яровизации *Ppd-D1* и *Vrn-1* описаны в таблице 63.

Таблица 63. Результаты генотипирования сортов Данко, Кулич, Вызов и исходных родительских форм по алельному разнообразию генов *Vrn-1* и *Ppd-D1*

Образец	Анализируемые гены			
	Ppd-D1	*Vrn-A1*	*Vrn-B1*	*Vrn-D1*
Кулич	*Ppd-D1b*	*Vrn-A1a*	Нет амплификации	*Vrn-D1b*
Паллада	*Ppd-D1a*	*Vrn-A1b*	*Vrn-B1a*	*Vr-nD1b*
SG-S-5-01	*Ppd-D1b*	*Vrn-A1a*	*Vrn-B1a*	*Vr-nD1b*
GRANNY	*Ppd-D1b*	*Vrn-A1a*	Нет амплификации	*Vrn-D1b*
Данко	*Ppd-D1b*	*Vrn-A1b*	нет амплификации	*Vrn-D1b*
ONIX	*Ppd-D1b*	*Vrn-A1b*	*Vrn-B1a*	*Vrn-D1a*
Л1707я5	*Ppd-D1a*	*Vrn-A1b*	нет амплификации	*Vr-nD1b*
SG-S-5-01	*Ppd-D1b*	*Vrn-A1a*	*Vrn-B1a*	*Vrn-D1b*
Вызов	*Ppd-D1a*	*Vrn-A1b*	*Vrn-B1b*	Гетерозигота
Велена	*Ppd-D1a*	*Vrn-A1b*	*Vrn-B1b*	*Vrn-D1b*
Юка	*Ppd-D1a*	*Vrn-A1b*	*Vrn-B1b*	*Vrn-D1b*
Айвина	*Ppd-D1a*	*Vrn-A1b*	*Vrn-B1b*	*Vrn-D1b*

Сорта Кулич и Данко несут рецессивный аллель *PpdD1b* и проявляют чувствительность к длине дня. Аллель *Ppd-D1b* мог быть передан от линии SG-S-5-01 или сорта сорта GRANNY в случае сорта Кулич и от сорта ONIX или линии SG-S-5-01 для сорта Данко. Доминантный аллелль *Ppd-D1a,* идентифицирован в сорте Вызов. Таким образом, этот сорт является нечувствительным к длине дня. Доминантный тип аллеля гена *Ppd-D1* выявлен в сортах Велена, Юка и Айвина, использовавшихся в качестве родительских форм при создании сорта Вызов.По результатам изучения аллельного разнообразия гена *Vrn-A1* в сортах Данко и Вызов диагносцировали рецесивный аллель гена *Vrn-A1b*. Доминантный аллель *Vrn-A1a* выявлен у сорта Кулич. Рецессивный аллель гена *Vrn -B1b* идентифицирован в сорте Вызов. Для сортов Кулич и Данко, а также их родительских форм сорта GRANNY и линии Л1707я5, соответственно, при проведении ПЦР амплификация отсутствовала по 2 маркерам, идентифицирующим доминантный и рецессивный аллели гена *Vrn-B1.* Это может быть связано с наличием у данных образцов отличных от *Vrn-B1a* и *Vrn-B1в* аллелей, потерей маркеров в ходе рекомбинаций при проведении бэкроссов, а также возможными перестройками по 5В хромосоме мягкой пшеницы. Большинство изученных образцов несут рецесивный аллель *Vrn-D1b*. Исключение составил сорт ONIX, в котором обнаружен доминантный тип аллеля *Vrn-D1a.* У сорта Вызов, ген *Vrn-D1*находится в гетерозиготном состоянии. Доминантный аллель *Vrn-A1*, выявленный у сорта Кулич, обуславливает его нечувстительность к яровизации и при эпистазе подавляет действие аллелей генов *Vrn-B1* и *Vrn-D1* (Pugsley et al., 1971). Известно, что генотипы с тремя доминантными аллелями генов *Vrn-1* характеризуются как самые ранние по времени цветения, однако такие генотипы не были отобраны в изучаемых образцах, к тому же они зачастую низкоурожайны. Генотипы с двумя доминантными аллелями (*Vrn-A1*/*Vrn-B1* или *Vrn-D1*) созревают немного позже и более урожайны. Предположительно такой генотип может иметь сорт Кулич, при условии доминантного аллеля по гену *Vrn-B1*. Наличие только одного доминантного аллеля *Vrn-B1* или *Vrn-D1* приводит к наиболее позднему цветению яровых (Pugsley et al., 1971; Košner et al., 2004).

Предположительно, такой генотип может нести сорт Данко. Однако эти выводы не согласуются с данными, полученными при изучении сроков созревания и продолжительности вегетационного периода у новых сортов мягкой пшеницы Данко, Кулич, Вызов. Так, вегетационный период от всходов до хозяйственно-биологической спелости составил от 110 дней для сорта Данко, что на 3 дня меньше, чем для сорта Кулич и на 8 дней меньше сорта Вызов. Таким образом, данный вопрос требует дальнейшего изучения. Вероятно, полученные сорта могут нести отличные, от искомых, аллели генов *Vrn-A1*, *Vrn-B1* и *Vrn-D1*, которые также могут влиять на чувствительность к яровизации и сроки созревания. В то же время необходимо идентифицировать аллели генов *Vrn-B*1 для сортов Данко и Кулич.

Для идентификации *Rht*-генов применяли ПЦР с праймерами, маркирующими аллели генов *Rht1*, *Rht2*, *Rht-11*, *Rht8* (табл. 64).

Таблица 64. Генотипирование сортов Данко, Кулич, Вызов и исходных родительских форм на присутствие ДНК-маркеров, сцепленных с генами *Rht1*, *Rht2*, *Rht-11*, *Rht8*

Образец	Присутствие ДНК-маркеров, сцепленных с генами			
	Rht1	*Rht2*	*Rht11*	*Rht8*
Кулич	*Rht-B1b*			
Паллада	*Rht-B1b*			192 п.н.
SG-S-5-01	*Rht-B1b*			
GRANNY	*Rht-B1b*			
Данко	*Rht-B1b*			
ONIX	*Rht-B1b*			
Л1707я5	*Rht-B1b*			192 п.н
SG-S-5-01	*Rht-B1b*			
Вызов			*Rht-B1e*	192 п.н
Велена			*Rht-B1e*	
Юка	*Rht-B1b*		`	192 п.н
Айвина		*Rht-D1b*		192 п.н

В сортах Данко и Кулич выявлен мутантный аллель *Rht-B1b* (ген *Rht1)*, снижающий высоту. Данный аллель также выявлен у сортов Паллада, GRANNY, ONIX, Юка и в линиях SG-S-5-01, Л1707я5. В сорте Айвина идентифицирован аллель *Rht-D1b* (ген *Rht2*), однако данный ген не был передан сорту Вызов. От сорта Велена в сорт Вызов перенесён аллель *Rht-B1e* (ген *Rht-11*). По литературным данным известно, что аллель *Rht-B1e* оказывает более сильное влияние на снижение высоты растений относительно аллеля *Rht-B1b* (Pearce, 2011). Это подтверждается данными, полученными при оценке высоты растений. Так в яровом посеве сорт Вызов проявляет себя как полукарлик и имеет высоту 70-90 см, то есть, на 10-20 см ниже сортов Кулич и Данко. Дополнительно к гену *Rht-11* сорт Вызов несёт аллель 192 п.н. гена *Rht8*. Вероятно, этот алель был передан от сортов Юка и Айвина и также оказывает влияние на снижение высоты у растений мягкой пшеницы.

Заключение к главе 5

Методами экологической селекции с использованием результатов молекулярного маркирования созданы новые сорта яровой мягкой пшеницы Данко и Кулич, а также сорт мягкой пшеницы факультативного образа жизни Вызов.

Новые сорта отличаются высокой продуктивностью, высоким качеством зерна, засухоустойчивостью и жаростойкостью, устойчивостью к полеганию и большим диапазоном по продолжительности вегетации, что позволяет им адаптироваться в различных эколого-климатических зонах.

Устойчивый к листовой ржавчине сорт Кулич имеет защиту от данной болезни в виде комбинации генов *Lr10+Lr19*. В дополнение к этому Кулич несёт ген устойчивости к стеблевой ржавчине *Sr25*, сцепленный с *Lr19*, доминантный аллель гена *Vrn-A1* и ген редукции высоты *Rht1*. Скороспелый яровой сорт Данко имеет сочетание генов *Lr10* и *Rht1*. 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*.

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.

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

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенной работы получен новый, ценный для селекции мягкой пшеницы исходный материал.

Установлен довольно широкий полиморфизм интрогрессивных линий по всем изученным признакам, что подтверждает их широкое генетическое разнообразие.

Синтетические формы Авродес, Авролата, *T. miguschovae,* RS1, RS6 и RS7 являются эффективными «мостиками» для передачи чужеродного генетического материала и представляют интерес в качестве уникальной генетической основы для сохранения и использования генофонда диких сородичей в селекции мягкой пшеницы.

Первоочередной задачей при создании изучаемых интрогрессивных линий являлась передача им устойчивости к болезням. Эта задача была успешно выполнена, так как большинство изученных линий обладают групповой устойчивостью к двум, трем, четырем болезням (листовая и желтая ржавчины, мучнистая роса и септориоз).

Особое внимание было уделено передаче от синтетических форм устойчивости к листовой ржавчине, как наиболее широко распространенной и вредоносной болезни. Выявлено, что большинство изученных линий (89%) являются устойчивыми к данной болезни. Кроме того, 34% из их числа обладают высокой устойчивостью (тип реакции – 01).

С применением ДНК маркеров было выявлено, что большинство линий несут единичные, утратившие эффективность, гены *Lr10, Lr26* и *Lr34*, а также их комбинации. Также, на основании молекулярного анализа установлено, что у 73 устойчивых к листовой ржавчине линий искомые ДНК-маркеры не были выявлены. Устойчивость в этих линиях может контролироваться как геном *Lr36,* переданным от *Ae. speltoides*, в линиях, производных от Авродес, так и *Lr22a,* и *Lr42* от *Ae. tauschii* в линиях, производных от *T. miguschovae,* идентификация которых не

проводилась. В тоже время, исходя из данных, полученных методами С – бендинга и FISH, в линиях идентифицированы ранее не изученные транслокации и замещения хромосом от *Ae. tauschii, Ae. speltoides* и *Ae. umbellulata*. Следовательно, они могут нести новые гены, контролирующие ценные для селекции признаки, и в том числе, что очень важно, новые гены устойчивости к болезням пшеницы. Стоит отметить, что маркеры, сцепленные с искомыми *Lr*-генами, могли быть утеряны в следствии рекомбинации при проведении методов беккросса и процесса самоопыления. Более того, линии могут содержать гены, идентифицированные относительно недавно, такие как *LrTt1* и *LrTt2* от *T. timopheevii* var. Viticulosum (Leonova et al., 2004; Leonova et al., 2010a) и *LrAsp.5*, переанный от *Ae. speltoides* (Адонина и др., 2012).

На основе цитогенетических и молекулярно-цитогенетических методов анализа у изученных линий установлены существенные хромосомные перестройки за счет чужеродных интрогрессий, которые в основном затрагивают D-геном. Такой результат был вполне ожидаем, так как в используемых для получения интрогрессивных линий синтетических формах Авродес и Авролата именно геном D мягкой пшеницы был замещён на соответствующие от дикорастущих видов, а у *T. miguschovae* геном D от *Ae. tauschii* был добавлен к геномам AG *T. militinae*. Особо следует выделить впервые полученные, новые транслокации и замещенния хромосом: 4D(4D^t), 5D(5D^t) и 6D(6D^t) от *Ae. tauschii*; T1D, T2A, T2D, T5D, T6DL,1B(1S) 4D(4S) от *Ae. speltoides*; T2DS.2DL-2UL и T.7DL.7DS-7US от *Ae. umbellulata*. Выявлены линии SU/11 с транслокацией T3DS.3DL-3SL, SU/19 с транслокациями T4BS и T5BL; SU/14 с T7B, природу которых не удалось установить, данная работа требует продолжения. Линии с идентифицированными интрогрессиями могут стать основой для работ по передаче генетического материала от дикорастущих видов, а также служить модельными объектами в фундаментальных исследованиях при изучении механизмов переноса чужеродного генетического материала в геном мягкой пшеницы.

С применением ДНК-маркеров отобраны перспективные для селекции мягкой пшеницы линии с мутантными аллелями *Rht-B1b Rht-B1e Rht-D1b Rht8*с

генов короткостебельности. Отобраны линии, у которых выявлен доминантный аллель гена *Ppd-D1a*, снижающий высоту и ускоряющий время цветения растений.

В ряде случаев у синтетических форм и линий, полученных с их участием, наблюдалось отсутствие амплификация при проведении ПЦР. Так в синтетических формах *T. migushovae*, Авродес, RS1и RS, а также в линиях МК/30, СМК/4, КАБ/11, АК/34, GS/33, АК/19, АК/28, КАБ/9, SM/2, SU/4 отсутствовали продукты амплификации маркера *Xgwm261*, сцепленного с геном *Rht-8*. В синтетических формах Авродес, RS1, RS7 и у линий GS/1, АК/19, АК/28 выявлено отсутствие амплификации с D-генома при изучении аллельного состояния *Wx*-генов. В линиях МБ/26, СМБ/29, АК/19, АК/28, АБ/11 SU/14, а также синтетических формах Авродес, RS7 при идентификации гена *Vrn-D1*отсутствовали продукты амплификации. Это может быть связано с отсутствием хромосом 2D, 7D и 3D соответственно или их замещением на гомеологичные хромосомы от *Ae. speltoides* и *Ae. tauschii*, а также наличием неизвестных (новых) аллелей, которые не маркируется используемыми праймерами. У синтетической формы *T. miguschovae* аллели генов *Wx-A1* и *Wx-B1* отличаются от таковых у мягкой пшеницы и могут иметь другое фенотипическое проявление на формирование крахмала. Синтетическая форма *T. miguschovae* может предположительно нести неизвестный аллель гена *Vrn-A1*, а Авродес и линии СМБ/29, АК/31, КАБ/11, АК/32, АБ/11, SM/2, SU/4 и SU/14 имеют дополнительный фрагмент амплификации 120 п.н., что может быть связано с интрогрессией чужеродного генетического материала. *T. miguschovae*, Авродес и линии СМБ/12, GS/1, СМК/4, АА/19 могут предположительно нести нетипичный для мягкой пшеницы аллель гена *Vrn-B1*. Данный аллель мог возникнуть путём хромосомных перестроек (транслокаций, замещений), при этом исходный ген пшеницы *Vrn-B1* оказался утрачен данными формами. В синтетических формах RS1, RS7 и линиях АК/19, АК/28 выявлен нетипичный для мягкой пшеницы фрагмент амплификации размером около 150 п.н. Эти образцы предположительно могут нести неизвестный аллель гена *Ppd-D1*.

Полученные с применением синтетических форм интрогрессивные линии могут служить в качестве новых доноров устойчивости к болезням, повышенного

содержания белка и клейковины и других важных агрономических признаков. Отобраны интрогрессивные линии, у которых групповая устойчивость к болезням сочетается с хорошими показателями по продуктивности, технологическим свойствам и хлебопекарным качествам. Эти линии рекомендованы для испытания на урожайность с целью возможного их использования в качестве кандидатов в сорта.

Применяемая нами схема упрощённого варианта маркер-опосредованного беккросса 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 с улучшенными технологическими качествами. ДНК-маркеры, подобранные для идентификации генов *Lr* и *Wx*, позволяют с высокой эффективностью отбирать линии как с единичные генами, так и их пирамидами, и тем самым существенно сокращают размер выборки и, соответственно, время создания новых форм мягкой пшеницы.

Основной целью данной работы являлось получение линий, несущих интрогрессируемые гены, однако данная технология является экономически затратной ввиду применения на каждом из его этапов маркерного отбора. С одной стороны, это уменьшает размер выборки растений и количество фенотипических отборов, например, при передаче генов устойчивости к листовой ржавчине, в то же время мы не могли полностью исключить проведение оценки по фенотипу ввиду доминантного типа наследования отобранных маркеров и их неспособностью выявлять гетерозиготные растения. С целью уменьшения трудозатрат, в случаях применения маркера J09, тесно сцепленного с геном *Lr24*, и внутригенного маркера Gb, сцепленного с геном *Lr19* целесообразно было бы ограничиться двумя этапами маркерного отбора. Использование кодоминантных маркеров позволило бы идентифицировать гомозиготные по генам устойчивости растения уже в ранних

поколениях. Так, эффективный кодоминантный маркер BF145935 для идентификации гена *Lr19* разработан Ayala-Navarete (2007). Кодоминантный SSR-маркер bars71 для идентификации гена *Lr24* предложен Mago et al., (2005b). CAPS-маркер URIC-LN2, применяемый для скрининга гена *Lr37*, также является кодоминантным и позволяет выявлять гомо и гетерозиготные растения, однако для его использования требуется расщепление продукта амплификации эндонуклеазой рестрикции *Dpn II*.

Одной из важных задач при использовании MAS является сокращение времени создания линий мягкой пшеницы, несущих желательные признаки. Технология удвоенных гаплоидов в этом контексте имеет потенциал для существенного ускорения селекции растений, так как гомозиготные линии доступны для отбора уже в гибридах первого поколения. Таким образом, сочетание гаплоидных технологий с MAS позволяет значительно ускорить селекционный процесс и сократить сроки создания нового сорта.

При создании линий с эффективными *Lr*-генами с помощью MAS выявлен существенный недостаток, который связан со снижением продуктивности у последних. Несмотря на то, что они проявляли устойчивость к болезни и имели хорошее качество зерна, большинство из них значительно уступали сортам-реципиентам по урожайности. Низкая урожайность может быть связана с нежелательными эффектами от генов, переданных мягкой пшенице от дикорастущих видов. Особенно заметно это проявлялось с линиями, несущими ген *Lr9* и *Lr24*, последний, как известно, передан в мягкую пшеницу в составе большого транслокационного сегмента (Schachermayr et al., 1995). Таким образом, такие линии не могут быть выведены в качестве коммерческих сортов, но могут с успехом быть использованы в качестве доноров устойчивости к листовой ржавчине.

Тем не менее, нам удалось отобрать перспективные для селекции линии, у которых урожайность уступала стандартам незначительно, при этом они имели лучшие показатели по содержанию белка и клейковины. Среди таких выделены две линии с геном *Lr24*, десять линий с геном *Lr37*, две линии с комбинацией *Lr9+Lr19*,

5 линий с *Lr24+Lr37* и одна линия с пирамидой из трёх генов *Lr9+Lr24+Lr37*. Эти линии рекомендованы для испытаний в КСИ. Кроме того, отобраны линии М.77-кс.13, М.77-кс.9, М.78-кс13, М.43-кс.8 с геном *Lr37,* обладающие устойчивостью к болезням, хорошей продуктивностью и качеством, которые рекомендованы для дальнейших испытаний.

Таким образом, MAS является эффективной технологией для передачи генов устойчивости к листовой ржавчине мягкой пшенице и их пирамидирования.

Несмотря на интенсивное развитие новых методов биотехнологии, таких как геномная селекция и геномное редактирование, MAS по-прежнему остаётся доступной и эффективной технологией для селекционных программ, направленных на создание сортов, не только устойчивых к одной отдельной болезни, но и получения оптимальной комбинации между урожайностью, устойчивостью и качеством.

ВЫВОДЫ

1. 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). В целом, из 343 линий 77 были устойчивы к четырём болезням, 120 - к трём болезням, 82 - к двум болезням.

2. Оценка устойчивости интрогрессивных линий к популяции листовой ржавчины, распространенной на территории Краснодарского края, показала, что большинство из них (89%) несёт устойчивость к данной болезни. В том числе 34% проявляют высокую устойчивость с типом реакции (1-).

3. По результатам гибридологического анализа установлено, что гены устойчивости к листовой ржавчине у изученных линий различаются между собой и, за исключением линии МБ/6, отличаются от ранее переданных известных генов *Lr39*, *Lr50*, *Lr35* и *Lr36*. Предположительно, линия МБ/6 несёт эффективный в условиях Краснодарского края ген *Lr50*.

4. 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.

5. Анализ MI мейоза интрогрессивных линий пшеницы показал, что большинство из них имеют стабильный мейоз. За исключением МК/27, все линии в MI мейоза формируют 21 бивалент и, таким образом, являются цитологически стабильными.

6. На основе применения методов изучения конъюгации хромосом в метафазе I мейоза, дифференциального окрашивания хромосом и геномной гибридизации *in situ* установлено, что передача генетического материала от

используемых синтетических форм в основном происходит посредством отдельных транслокаций и их комбинацией с замещением хромосом. В тоже время в некоторых случаях она может осуществляться с помощью замещения отдельных хромосом, а в случае линий АК/34, SU/8 и SU/13 – за счёт гомеологичной рекомбинации.

7. Результаты, полученные в ходе цитологических исследований, подтверждают значительное генетическое разнообразие изученных линий. Выявлены ранее не идентифицированные транслокации и замещения, которые могут нести новые гены, контролирующие ценные для селекции признаки, в том числе, что очень важно, новые гены устойчивости к болезням пшеницы.

8. Оценка интрогрессивных линий по наличию ДНК-маркеров, сцепленных с генами, детерминирующими ценные хозяйственно-биологические признаки, выявила в них значительное генетическое 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*.

9. 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.

10. С применением схемы маркер-контролируемого беккроссного отбора получены линии-доноры, содержащие единичные гены и пирамиды двух, трех генов устойчивости к листовой ржавчине. Получены линии мягкой пшеницы с модифицированным соотношением амилозы и амилопектина, несущие нуль-аллели *Wx*-генов.

11. С помощью ДНК-маркеров *Xgwm533* и *Xgwm493* отобраны растения F_2, несущие локус устойчивости к фузариозу колоса QFhs.ndsu-3BS и имеющие хорошую оценку по степени поражения зерна.

12. С использованием аллель-специфичных праймеров у линий мягкой пшеницы альтернативного и ярового образа жизни выявлено высокое генетическое разнообразие гаплотипов согласно идентифицированным аллелям генов *Vrn-1* и *Ppd-1*.

13. Методами экологической селекции с использованием результатов молекулярного маркирования созданы сорта яровой мягкой пшеницы Данко и Кулич, а также сорт мягкой пшеницы альтернативного образа жизни (двуручка) Вызов, которые переданы для проведения Государственного сортоиспытания.

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 *Ae. speltoide, Ae. umbellulata, T. militinae, Ae. tauschii.*

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 неизвестные 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 беккросса линии: М. 21-кп.24, М. 104-кп.24 с геном *Lr24*; М.103-кп.37, М.11-кп.37, М.15-кп.37, М.162-кп.37, М.43-кп.37, М.119-кп.37, М.179-кп.37, М.204-кп.37, М.207-кп.37, М.214-кп.37 с геном *Lr37*; М.28Мс36, М.29Мс38 с комбинацией генов *Lr9+Lr19*; П.12Мс4, П.169Мс3, П.173Мс9, П.225Мс7, П.240Мс8 с генами *Lr24+Lr37;* П.172Мс4с пирамидой генов *Lr9+Lr24+Lr37* рекомендованы для испытаний в КСИ.

5. Полученные с помощью MAS линии М.77-кс.13, М.77-кс.9, М.78-кс.13, М.43-кс.8 с геном *Lr37,* обладающие устойчивостью к болезням, хорошей продуктивность и качеством зерна, рекомендованы для дальнейших испытаний.

6. Полученные с помощью MAS линии КЛ.88-17и КЛ.89-1, несущие нульаллель *Wx-A1b*, КЛ.92-28с нульаллелями *Wx-A1b* и *Wx-D1b*, а также КЛ.92-32 с нульаллелем *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 альтернативного образа жизни Вызов рекомендуется для испытания в производстве по Центрально-чернозёмному (5), Северо - Кавказскому (6), Средневолжскому (7) и Нижневолжскому (8) регионам

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Аблова, И.Б. Генетический контроль устойчивости озимой пшеницы к фузариозу колоса в условиях Краснодарского края / И.Б. Аблова // Тр. КубГАУ. – Краснодар. – 2008. – Вып. 1 (10). – С. 109-114.

2. Аблова, И.Б. Принципы, методы и результаты селекции озимой пшеницы на устойчивость к болезням в Краснодарском НИИСХ им. П.П. Лукьяненко / И.Б. Аблова, Л.А. Беспалова, Ф.А. Колесников [и др.] // 100 лет на службе АПК: традиции, достижения, инновации: сб. науч. тр. КНИИСХ. – 2014. – С. 48–67.

3. Адонина, И.Г. Создание и изучение устойчивых к листовой ржавчине линий мягкой пшеницы с транслокациями от *Aegilops speltoides* Tauch. / И.Г. Адонина, Н.В. Петраш, Е.М. Тимонова, Ю.А. Христов, Е.А. Салина // Генетика. – 2012. – № 48(4). – С. 488-494.

4. Азарин, К.В. ДНК маркеры в селекции растений: учебное пособие / К.В. Азарин, Н.В. Маркин, В.С. Лотник, А.В. Усатов. – Ростов-на-Дону: Издательство Южного федерального университета, 2012. – 16 с.

5. Афифи, А. Статистический анализ: Подход с использованием ЭВМ / А. Афифи, С. Эйзен. – М.: Мир, 1982. – 488 с.

6. Бебякин, В.М. Эффект взаимодействия генов, контролирующих показатели структуры урожая и качество зерна озимой пшеницы / В.М. Бебякин, Н.И. Коробова // Доклады ВАСХНИЛ. – 1990. – № 25. – С. 2-6.

7. Бадаева, Е.Д. Закономерности межгеномных замещений гибридов пшеницы и их использование для создания генетической номенклатуры хромосом *T. timopheevii* / Е.Б. Будашкина, Е.Н. Билинская, В.А. Пухальский // Генетика. – 2010. – Т. 46. – С. 869–886.

8. Барышева, Н.В. Селекционно-генетическое изучение интрогресивных линий *Triticum durum* desf., иммунных к стеблевой ржавчине: автореф. дис. канд. биол. наук / Н.В. Барышева. – Новосибирск, 1990. – 15 с.

9. Беспалова, Л.А. Фотопериодическая чувствительность и молекулярное маркирование генов *Ppd* и *Vrn* в связи с селекцией сортов пшеницы альтернативного образа жизни / Л.А. Беспалова, В.А. Кошкин, Е.К. Потокина // Доклады РАСХН. – 2010. – № 6. – С. 3-6.

10. Беспалова, Л.А. Применение молекулярных маркеров в селекции пшеницы в Краснодарском НИИСХ им. П.П. Лукьяненко / Л.А. Беспалова, А.В. Васильев, И.Б. Аблова // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2012. – Т. 16. – № 1. – С. 37–43.

11. Беспалова, Л.А. Новые сорта яровой твердой пшеницы для условий Северного Кавказа / Л.А. Беспалова, А.Н. Боровик, С.Н. Гапонов // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2014. – Вып. 2 (47). – С. 56-60.

12. Большева, Н. П. Сравнение дифференциально окрашенных хромосом у двух родственных форм ржи / Н. П. Большева Е. Д. Бадаева, А. И. Курочкина, Н. С. Бадаев // Генетика. – 1984. – Т .20. – № 12. – С. 2025-2030.

13. Будашкина, Е.Б. Цитогенетическое изучение межвидовых гибридов пшеницы (*Triticum aestivum* × *Triticum dicoccum*) и их селекционное значение: автореф. дис. кбн – Новосибирск: ИЦиГ СО АН СССР, 1975. – 28 с.

14. Будашкина, Е.Б. Цитогенетическое и биохимическое изучение интрогрессивных линий мягкой пшеницы, устойчивых к болезням / Е.Б. Будашкина, Л.П. Солоненко, М.Х. Коробейникова // Характеристика генома некоторых видов сельскохозяйственных растений. - Новосибирск, 1990.-С.159-169.

15. Вавилов, Н. И. Теоретические основы селекции растений / Н. И. Вавилов. – М., 1935. – Т. 1. – С. 893-990.

16. Вавилов, Н.И. Мировые ресурсы хлебных злаков. Пшеница / Н. И. Вавилов. – М., 1964. – С. 123.

17. Вавилов, Н. И. Азия — источник видов / Н. И. Вавилов // Наука и жизнь. — 1968. – № 1. — С. 98.

18. Вавилов, Н.И. Иммунитет растений к инфекционным заболевниям / Н.И. Вавилов. – М.: Наука, 1986. – С. 520.

19. Вакар, Б.А. Цитология пшенично-пырейных гибридов / Б.А. Вакар. – Омск, 1935. – С. 7.

20. Вакар, А.В. Клейковина пшеницы / М.: Изд. АН СССР, 1961. – 252 с.

21. Вакар, А.Б. Белковый комплекс клейковины / Б.А. Вакар // Растительные белки и их биосинтез: сб. науч. трудов. – М.: Наука, 1975. – С. 35-50.

22. Гагкаева, Т.Ю. Характеристика сортов озимой пшеницы по устойчивости к фузариозу зерна / Т.Ю. Гагкаева, А.С. Орина, О.П. Гаврилова, И.Б. Аблова, Л.А. Беспалова // Вавиловский журнал генетики и селекции. - 2018. № 22(6).- С. 685-692.

23. Гешеле, Э.Э. Основы фитопатологической оценки в селекции растений / Э.Э. Гешеле. – М., 1978. – 205 с.

24. Гончаров, Н. П. Сравнительная генетика пшениц и их сородичей / Н. П. Гончаров. – Новосибирск: Гео, 2012. – 523 с.

25. Гордей, И. А. Генетические основы повышения скрещиваемости мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) с культурной рожью (*Secale cereale* L.) Сообщ. 1. Генетическая специфичность взаимодействия скрещиваемости мягкой пшеницы с диплоидной и тетраплоидной рожью. / И. А. Гордей, И. М. Гордей // Генетика. – 1983а. – Т. 19. – № 4. – С. 641-646.

26. Гостимский, С.А., Использование молекулярных маркеров для анализа геномов растений / С.А. Гостимский, З.Г. Кокаева, В.К. Боброва // Генетика. – 1999. – Т. 35. – № 11. – С. 1538-1543.

27. Гультяева, Е. И. Тенденции изменчивости популяций *Puccinia triticina* под влиянием выращиваемых сортов пшеницы и эффективность *Lr*-генов в основных зернопроизводящих регионах РФ / Е. И. Гультяева, О. А. Баранова // Технологии создания и использования сортов и гибридов с групповой и комплексной устойчивостью к вредным организмам в защите растений. – СПб., 2010. – С. 26-48.

28. Гультяева, Е.И. Устойчивость к бурой ржавчине сортов пшеницы испытываемых на госсортоучастках Северо - Запада РФ / Е.Н. Гультяева, Н.В. Алпатьева // Труды по прикладной ботанике, генетики и селекции. – 2011. – Т. 168. – С. 95-106.

29. Гультяева, Е. И. Методы идентификации генов устойчивости пшеницы к бурой ржавчине с использованием ДНК-маркеров и характеристика эффективности *Lr*-генов / Е. И. Гультяева. – СПб.: ГНУ ВНИИЗР, 2012. – 72 с.

30. Гультяева, Е.И. Селекция пшеницы на устойчивость к бурой ржавчине в России / Е.И. Гультяева // VII Съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров, посвященный 100-летию кафедры генетики СПбГУ, и ассоциированные симпозиумы: сб. тез. Конгресса. – 2019. – С. 1121.

31. Гультяева, Е.И., Расширение генетического разнообразия сортов яровой мягкой пшеницы по устойчивости к бурой ржавчине (*Puccinia triticina* Eriks.) в Нижнем Поволжье / Е. И. Гультяева, С.Н. Сибикеев, А.Е. Дружин, Е.Л. Шайдаюк // Сельскохозяйственная биология. – 2020. – Т. 55. – № 1. – С. 27-44.

32. Давоян, Р. О. Синтезированный гомолог мягкой пшеницы *Triticum miguschovae* как источник устойчивости к листовой ржавчине / Р. О. Давоян // Селекция и генетика зерновых и зернобобовых культур: сб. тр. КНИИСХ. – Краснодар, 1988. - С. 30-36.

33. Давоян, Р.О. Геномно-замещенная форма Авродес как источник устойчивости растений мягкой пшеницы к листовой ржавчине и мучнистой росе / Р. О. Давоян, Е. Г. Жиров // Сельскохоз. биология. - 1995. - № 1, С. 95-101.

34. Давоян, Р.О. Синтетический гексаплоид *Triticum miguschovae* Zhir. как источник генетического разнообразия мягкой пшеницы / Р.О. Давоян, Л.А. Беспалова // Доклады РАСХН. – 2005. – № 5. – С. 3-5.

35. Давоян Р.О. Использование генофонда дикорастущих сородичей в улучшении пшеницы (*Triticum aestivum* L.): автореф. дис. д-ра биол. наук. Краснодар, 2006. – 49 с.

36. 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 [и др.] // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2012. – Т. 16. – № 1. – С. 44-51.

37. Давоян, Э.Р. Идентификация генов устойчивости к листовой ржавчине в видах *Aegilops* L., синтетических формах и интрогрессивных линиях мягкой

пшеницы / Э.Р. Давоян, И.В. Бебякина, Р.О. Давоян, О.Р. Давоян [и др.] // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2012. – Т. 16. – № 1. – С. 116-122.

38. Давоян, Э.Р. Использование молекулярных маркеров в селекции пшеницы на устойчивость к бурой ржавчине в Краснодарском НИИСХ им. П.П. Лукьяненко / Э.Р. Давоян, Л.А. Беспалова, Р.О. Давоян, Ю.С. Зубанова [и др.] // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2014. – Т. 18. – № 4-1. – С. 732-738.

39. 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, [и др.] // Рисоводство. – 2017. – № 4 (37). – С. 11-16.

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

41. Дивашук, М.Г. Молекулярно-ге-нетическая характеристика аллеля *Wx-B1e* мягкой пшеницы и применимость ДНК-маркеров для его идентификации / М.Г. Дивашук, М.В. Климушина, Г.И. Карлов // Генетика. – 2011. – Т. 47. – № 12. – С. 1611-1615.

42. Дивашук, М.Г. Идентичность генов короткостебельности *Rht-11* и *Rht-B1e* / М.Г. Дивашук, А.В. Васильев, Л.А. Беспалова, Г.И. Карлов // Генетика. — 2012. — Т. 48(7). —С. 897.

43. Доспехов, Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований) / Б.А. Доспехов. – М.: Альянс, 2011. – 350 с.

44. Жиров, Е.Г. Синтез новой гексаплоидной пшеницы / Е.Г. Жиров // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. – 1980. – Т. 68. – Вып. 1. – С. 14-16.

45. Жиров, Е.Г., Терновская Т.К. Геномная инженерия у пшеницы / Е.Г. Жиров // Вестник сельскохозяйственных наук. – 1984. – № 10. – С. 58-66.

46. Жиров, Е. Г. Геномы пшеницы: исследование и перестройка: автореф. дисс. доктора биол. наук / Е.Г. Жиров. – Киев, 1989. – 36 с.

47. Карпеченко, Г.Д. Увеличение скрещиваемости вида путем удвоения

числа хромосом / Г.Д. Карпеченко // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. – Л., 1937. – Серия II. – № 7.

48. Кендалл, М. Дж. Многомерный статистический анализ и временные ряды =The Advanced Theory of Statisstics: пер. с англ / М. Дж. Кендалл, А. Стьюарт. – М.: Наука: Гл. ред. физ.-мат. лит, 1976. – 736 с.

49. Клекка, У. Р. Факторный, дискриминантный и кластерный анализ / У. Р. Клекка // М.: Финансы и статистика. – 1989. – С. 78-138.

50. Климушина, М.В. Распределение аллелей генов *Wx* в коллекции мягкой пшеницы Краснодарского НИИСХ им. П.П. Лукьяненко / М.В. Климушина, Н.И. Гладких, М.Г. Дивашук, Л.А. Беспалова, А.В. Васильев, Г.И. Карлов // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2012. – Т. 16. – № 1. – С. 187-192.

51. Климушина, М.В. Анализ аллельного состава генов, связанных с хлебопекарными качествами, у аллоцитоплазматических гибридов пшеницы / М.В. Климушина, М.Г. Дивашук, Т.А.К. Мухаммед [и др.] // Генетика. – 2013. – Т. 49. – № 5. – С. 617-625.

52. Коваленко, Е.Д., Стратегия селекции пшеницы на устойчивость к ржавчинным заболеваниям / Е.Д. Коваленко, А.И. Жемчужина, М.И. Киселева, Т.М. Коломиец // Защита и карантин растений. – 2012. – № 9. – С. 19-22.

53. Кривченко, В.И. Об устойчивости эгилопсов к пыльной головне / В.И. Кривченко, А.М. Ямалеев, Э.Ф. Мигушова // Сельскохозяйственная биология. – 1976. – Т.11. – № 5. – С. 706-711.

54. Лакин, Г.Ф. Биометрия / Г.Ф. Лакин. – М.: Высшая школа, 1990. – С. 352.

55 Лапочкина, И.Ф. Реконструкция генома мягкой пшеницы с использованием вида *Aegilops speltoides* Tausch. / И.Ф. Лапочкина, Е.В. Власова, Г.Л. Ячевская // 11-я конф. Европейского общества по анеуплоидам пшеницы, посвященная памяти О.И. Майстренко: тезисы. – Новосибирск, 2000. – С. 43.

56. Леонова, И.Н. Молекулярные маркеры: использование в селекции зерновых культур для идентификации, интрогрессии и пирамидирования генов / И.Н. Леонова // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2013. – Т. 17. – № 2. –С. 314–325.

57. Леонова, И.Н. Молекулярно–генетическое разнообразие интрогрессивных линий мягкой пшеницы (*T. aestivum/T. timopheevii*) / И.Н. Леонова, О.А. Орловская, М.С. Родер [и др.] // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2014. – Т. 17. – С. 681–690.

58. Леонова, И.Н. Влияние чужеродного генетического материала на проявление хозяйственно важных признаков мягкой пшеницы (*T. aestivum L.*) / И.Н. Леонова // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2018. –Т. 22. – № 3. – С. 321-328. DOI 10.18699/VJ18.367

59. Леонтьев, Ф.П. Передача устойчивости к бурой ржавчине от *T. timopheevii* мягкой пшенице / Ф.П. Леонтьев, Е.Б. Будашкина // 7 Всесоюзное совещание по иммунитету сельскохозяйственных растений к болезням и вредителям: тез. докл. – Омск,1981. – С. 134-135.

60. Мигушова, Э.Ф. Устойчивость эгилопсов к бурой ржавчине / Э.Ф. Мигушова, О.Г. Григорьева // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. – 1973. – Т. 50. – Вып. 1. – С. 227-243.

61. Мигушова, Э.Ф. Устойчивость эгилопсов к мучнистой росе / Э.Ф. Мигушова, Э.Х. Суханбердина, В.И. Кривченко // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. – 1982. – Т. 68. – Вып. 1. – С. 111-117.

62. Павлов, А.Н. Качество клейковины пшеницы и факторы, его определяющие / А.Н. Павлов // Сельскохозяйственная биология. – 1992. – №21. – С. 3-15.

63. Пересыпкин, В. Ф. Болезни зерновых культур / В. Ф. Пересыпкин. – М.: Колос, 1979. – С. 122-124.

64. Плотникова, Л.Я. Тенденция преодоления устойчивости к бурой ржавчине интрогрессивных линий мягкой пшеницы с генетическим материалом *Aegilops speltoides* Tausch / Л.Я. Плотникова, Л.В. Мешкова, Е.И. Гультяева [и др.] // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2018. – Т. 22. – № 5. – С. 560-567.

65. Поротников, И.В. Молекулярные маркеры в генетическом анализе скрещиваемости мягкой пшеницы с рожью / И.В. Поротников, О.Ю. Антонова, О.П Митрофанова // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2020. – Т. 24. – № 6.

–С. 557-567. DOI 10.18699/VJ20.649

66. Потокина, Е.К. Комбинация аллелей генов *ppd* и *vrn* определяет сроки колошения у сортов мягкой пшеницы / Е.К. Потокина, В.А. Кошкин, И.И. Матвиенко В.А. Филобок, Л.А. Беспалова // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2012. – Т. 16. – № 1. – С. 77–86.

67. Пшеничникова, Т.А. Картирование локусов количественных признаков (QTL), ассоциированных с показателями качества зерна мягкой пшеницы, выращенного в различных условиях среды / Т.А. Пшеничникова, М.Ф. Ермакова, А.К. Чистякова [и др.] // Генетика. – 2008. – Т. 44. – № 1. – С. 74–84.

68. Ригин, Б.В. Пшенично-ржанные амфидиплоиды / Б.В. Ригин И.Н. Орлова. – М.: Колос, 1977. – 221 с.

69. Романенко, А.А. Новая сортова политика и сортовая агротехника озимой пшеницы / А.А. Романенко, Л.А. Беспалова, И.Н.Кудряшов, И.Б. Аблова. – Краснодар: Эдви, 2005. – 224 с.

70. Садовая, А.С. Характеристика устойчивости к возбудителю бурой ржавчины сортов и линий мягкой пшеницы из коллекции ВИР, несущих чужеродный генетический материал / А.С. Садовая, Е.И. Гультяева, О.П. Митрофанова [и др.] // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2014. –Т. 18. – № 4. –С. 739-750.

71. Салина, Е.А. „Speltl" новое семейство тандемных повторов злаков / Е.А. Салина, Е.Г. Песцова, А.В. Вершинин // Генетика. 1997. –Т. 33. – № 4. – С. 437-442.

72. Салина, Е.А. ДНК-маркеры для генотипирования линий мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) с генетическим материалом *Aegilops speltoides* Tausch и *Triticum timopheevii* Zhuk. / Е.А. Салина, Е.М. Егорова, И.Г. Адонина [и др.] // Информационный вестник ВОГиС. – 2008. – Т. 12. – № 4. – С. 620-628.

73. Серебровский, А.С. Генетический анализ / А.С. Серебровский. – М.: Наука, 1970. – 342 с.

74. Скурыгина, Н.А. T. araraticum Jakubz. – источник факторов цитоплазматической мужской стерильности пшеницы / Н.А. Скурыгина // Бюллетень ВНИИР. – 1970. – Вып. 15. – С. 3–5.

75. Скурыгина, Н.А. Интрогрессия генов устойчивости к болезням *Triticum timopheevii* Zhuk. в геном мягкой пшеницы при беккроссах / Н.А. Скурыгина // Бюллетень ВИР. – 1979. – Вып. 89. – С. 5-10.

76. Скурыгина, Н.А.Высокоэффективные гены устойчивости к популяции бурой ржавчины и мучнистой росы у линий мягкой пшеницы, призводных *T. timopheevii* Zhuc. и их идентификация / Н.А. Скурыгина // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. – 1984. – Т. 85. – С. 5-13.

77. Созинов, А.А. Улучшение качества зерна озимой пшеницы и кукурузы / А.А. Созинов, Г.П. Жемела. – М., 1983. – С. 29-30.

78. Сулима, Ю.Г. Тритикале: Достижения проблемы перспективы / Ю.Г. Сулима. – Кишинёв, 1976. – 200 с.

79. Сулимова, Г.Е. ДНК-Маркеры в генетических исследованиях: типы маркеров, их свойства и области применения / Г.Е. Сулимова // Успехи современной биологии. – 2004. – Т. 124. – № 3. – С. 260-271.

80. Таврин Э.В. Получение межвидовых гибридов от скрещивания мягкой пшеницы с *T. sinskagae* A. Rilat et. Kunk. / Э.В. Таврин, Л.В. Прилюк // Генетика. – 1983. – Т. 19. – № 8. – С. 1381-1383.

81. Тимонова, Е.М. Влияние отдельных участков хромосом *Triticum timopheevii* на формирование устойчивости к болезням и количественные признаки мягкой пшеницы / Е.М. Тимонова, И.Н. Леонова, И.А. Белан, Л.П. Россеева, Е.А. Салина // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2012. – Т. 16. – С. 585–602.

82. Урбанович, О.Ю. Определение генов устойчивости к бурой ржавчине в сортах пшеницы (*Triticum* L.) с использованием молекулярных маркеров / О.Ю. Урбанович, С.В. Малышев, Т.В. Долматович, Н.А. Картель // Генетика. – 2006. – Т. 42. – № 5. – С. 675–683.

83. Фляксберг, К.А. Система пшениц и скрещивание географически отдалённых форм / К.А. Фляксберг // Природа. – 1935. – № 4. – С. 85-90.

84. Хижняк В.А. Цитологическое изучение пшенично-пырейных гибридов и методика селекции многолетних трав / В.А. Хижняк // Труды Азово-Черноморского селекцентра. – Ростов н/Д, 1936. – Вып. 1. – С. 25-35.

85. Хлесткина, Е.К. Молекулярные маркеры в генетических исследованиях и в селекции / Е.К. Хлесткина // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2013. – Т. 17. – № 4/2. – С. 1044–1054.

86. Чесноков, Ю. В. Генетические ресурсы растений и ускорение селекционного процесса / Ю. В.Чесноков, В. М. Косолапов; ФАНО; ВНИИК им. В.Р. ВИЛЬЯМСА. – Москва, 2016. – С. 46.

87. Чмут, Л.Я. Устойчивость оброзцов различных видов пшеницы к грибным болезням / Л.Я. Чмут, В.В. Мешков, Д.П. Денисов // Теоретические основы селекции и семеноводства сельскохозяйственных культур в Западной Сибири. – Новосибирск, 1988. – С. 15-23.

88. Якубцинер, М.М. Иммунитет видов пшеницы к грибным заболеваниям / Вестник сельскохозяйственной науки. – 1968. – Вып. 2. – С. 21-27.

89. Acosta, A. C. The transfer of stem rust resistance from rue to wheat / A. C. Acosta // Diss. Abstr. 1962 23: 34-35.

90. Adams, M.D. Complementary DNA sequencing: Expressed sequence tags and human genome project / M.D. Adams, J.M. Kelley J.D. Gocayne, M. Dubnick et al. // Science, 1991, v. 252, pp. 1651-1656.

91. Aghaee-Sarbarzeh, M. A microsatellite marker linked to leaf rust resistance transferred from Aegilops triuncialis into hexaploid wheat / M. Aghaee-Sarbarzeh, H. Singh, H.S. Dhaliwal // Plant Breed. – 2001. – V. 120. – P. 259–261.

92. Ahmad, M. Molecular marker-assisted selection of HMW glutenin alleles related to wheat bread quality by PCR-generated DNA markers / M. Ahmad // Theor App Genet. 2000. 101:892– 896.

93. Ahmadi, N. Genetic basis and mapping of the resistance to Rice yellow mottle virus. III. Analysis of the QTLs efficiency in introgressed progenies confirmed the hypothesis of complementary epistasis between two resistance QTLs / N. Ahmadi, L. Albar, G. Pressoir [et al] // Theoretical and Applied Genetics. 2001. 103: 1084–1092.

94. Akbari, M. Diversity arrays technology (DArT) for high-throughput profiling of the hexaploid wheat genome / M. Akbari, P. Wenzl, V. Caig, J. Carling [et al] // Theoretical and Applied Genetics, 2006. V. 113. № 8. P. 1409-1420.

95. Aktar-Uz-Zaman, M. Genetic analysis of rust resistance genes in global wheat cultivars: an overview / M. Aktar-Uz-Zaman, M. Tuhina-Khatun, M.M. Hanafi, M. Sahebi // Biotechnology & Biotechnological Equipment, 2017, 31(3): 431-445

96. Alam, M.A. Powdery mildew resistance genes in wheat: identification and genetic analysis / M.A. Alam, F. Xue, C. Wang, W. Ji // J. Mol. Biol. Research. – 2011. – V. 1. – P. 20–39.

97. Allard, R. W. & R. G. Shands Inheritance of resistance to stem rust and powdery mildew in cytologically stable spring wheats derived from *Triticum timopheevii* / R.W. Allard, R. G. Shands // Phytopathologe, 1954. 44: 266-274.

98. Alqudah, A.M. Genetic Dissection of Photoperiod Response Based on GWAS of Pre-Anthesis Phase Duration in Spring Barley / A.M. lqudah, R. Sharma, R.K. Pasam, A. Graner [et al.] // PLoS ONE. 2014. 9(11): e113120.

99. Anderson, J.A. DNA markers for Fusarium head blight resistance QTLs in two wheat populations / J.A. Anderson, R. Stack, S. Liu, B. Waldron [et al.] // Cregan Theoretical and Applied Genetics. 2001. 102:1164-1168.

100. Anderson, J.A. Molecular breeding using a major QTL for Fusarium head blight resistance in wheat / J.A. Anderson, S. Chao, S. Liu // Crop Science. 2007. 47: S-112-S-119.

101. Andersson, R. Content and molecular-weight distribution of dietary fiber components in wholegrain rye flour and bread. J Agric Food / R. Andersson, G. Fransson, M. Tietjen, P. Aman |// Chem. 2009. 57(5):2004–2008

102. Appelbee, M.J. Novel allelic variants encoded at the *Glu-d3* locus in bread wheat / M.J. Appelbee, G.T. Mekuria, V. Nagasandra, J.P. Bonneau et al. // Cereal Sci.

2009. 49: 254-261.

103. Autrique, E. Molecular markers for four leaf rust resistance genes introgressed into wheat from wild relatives / E. Autrique, R.P. Singh, S.D. Tanksley, M.E. Sorrells // Genome. – 1995. – V. 38. – P. 75–83.

104. Ayala-Navarrete, L. Trigenomic chromosomes by recombination of Thinopyrum intermedium and Th. ponticum translocations in wheat / L. Ayala-Navarrete, H.S. Bariana, R.P. Singh et al. // Theor. Appl. Genet. – 2007. – V. 116. – P. 63–75.

105. Bacon, R.K. Registration of soft wheat germplasm AR93005 resistant to leaf rust // R.K. Bacon, J.T. Kelly, E.A. Milus, C.E. Parsons // Crop Sci. 2006.46:1398-1399.

106. Badaeva, E. D. Intraspecific kariotype divergence in *Triticum araraticum* (Poaceae) / E. D. Badaeva, N. S. Badaev, B. S. Gill // Plant Systems and Evolution. - 1994.- V 192. - P.117-145.

107. Backhouse, W.O. Note on the inheritance of “Crossability” / W.O. Backhouse // J. Gen. 1916. 6; 91–94.

108. Badaeva, E.D. Genome differentiation in Aegilops. 1. Distribution of highly repetitive DNA sequences on chromosomes of diploid species / E.D. Badaeva, B. Friebe, B.S. Gill // Genome. 1996a. 39: 293–306.

109. Badaeva, E.D. Friebe B, Gill BS. Genome differentiation in Aegilops. 2. Physical mapping of 5S and 18S-26S ribosomal RNA gene families in diploid species / E.D. Badaeva, B. Friebe, B.S. Gill // Genome. 1996b. 39: 1150–1158.

110. Badaeva, E.D. Genome differentiation in Aegilops. 3. Evolution of the D-genome cluster / E.D. Badaeva, A.V. Amosova, O.V. Muravenko, T.E. Samatadze, N.N. Chikida et al. // Plant Systematics and Evolution. 2002. 231: 163–190.

111. Badaeva, E.D. Genome differentiation in Aegilops. 4. Evolution of the U-genome cluster / E.D. Badaeva, A.V. Amosova, T.E. Samatadze, S.A. Zoshchuk et al. // Plant Systematics and Evolution. 2004. 246: 45–76.

112. Badaeva, E.D. Set of cytogenetic markers allows the precise identification of all A-genome chromosomes in diploid and polyploid wheat / E.D. Badaeva, A.V. Amosova, N.P. Goncharov, J. Macas [et al.] // Cytogenetics Genome Research. 2015. 146: 71–79.

113. Balfourier, F. Worldwide phylogeography and history of wheat genetic diversity / F. Balfourier, S. Bouchet, S. Robert, R. De Oliveira [et al.] // Sci. Adv. 2019. 5, eaav0536.

114. Bansal, U.K. Genetic mapping of adult plant leaf rust resistance genes *Lr48* and *Lr49* in common wheat / U.K. Bansal, M.J. Hayden, B.P. Venkata et al. // Theor. Appl. Genet. – 2008. –V. 117. – P 307–312.

115. Bansal, U.K. Characterization of a new stripe rust resistance gene *Yr47* and its genetic association with the leaf rust resistance gene *Lr52* / U.K. Bansal, K.L. Forrest, M.J. Hayden et al. // Theor. Appl. Genet. – 2011. – V. 122. – P. 1461– 1466.

116. Bartos, P.& I. Bares. Leaf and stem rust resistance of hexaploid wheat cultivars" Salzmander Bartweizen" and " Weique" / P. Bartos, I. Bares // Euphytica 1971. 20: 435-440.

117. Beales, J. A pseudo-response regulator is misexpressed in the photoperiod insensitive *Ppd-D1a* mutant of wheat (*Triticum aestivum* L.) / J. Beales, A. Turner, S. Griffiths, J.W. Snape, D.A. Laurie // Theor Appl Genet. 2007. - V. 115. № 5. P.721-733.

118. Bedbrook, J. R. A molecular description of telomeric heterochromatin in Secale species / J. R. Bedbrook et al. // Cell. – 1980. – Vol. 19. – No. 2. – P. 545-560.

119. Bell, D.G., Lupton F.G.H. Investigation of the Triticinae. Disease reactions of species of *Triticum* and *Aegilops* and amphiploids betveen them / D.G. Bell, F.G.H. Lupton // Can. J. Genet. Cytol. -1955.-V. 5. –P. 83-88.

120. Belyayev, A. Detection of alien chromosomes from S-genome species in the addition/substitution lines of bread wheat and visualization of A-, B- and D-genomes by GISH / A. Belyayev, O. Raskina, E. Nevo // Hereditas. 2001a. 135: 119–122.

121. Belyayev, A. Evolutionary dynamics and chromosomal distribution of repetitive sequences on chromosomes of *Aegilops speltoides* revealed by genomic in situ hybridization / A. Belyayev, O. Raskina, E. Nevo // Heredity. 2001b. 86: 738–742.

122. Bentley, A.R. Frequency of photoperiod-insensitive Ppd-A1a alleles in tetraploid, hexaploid and synthetic hexaploid wheat germplasm / A.R. Bentley, A.S. Turner, N. Gosman, F.J. Leigh, M. Maccaferri, S. Dreisigacker, A. Greenland, D.A. Laurie // Plant Breed. - 2011. - V. 130. - № 1. - P. 10-15.

123. Bernardo, R. Prospects for genomewide selection for quantitative traits in maize / R. Bernardo, J. Yu // Crop Sci., 47. 2007. pp. 1082-1090.

124. Beukert, U. Genome-based identification of heterotic patterns in rice / U. Beukert, Z. Li, G. Liu, Y. Zhao [et al.]// Rice. 10. 2017. p. 22.

125. Bhagyalakshmi, K. Interspecific hybrids from wild x cultivated Triticum crosses - a study on the cytological behaviour and molecular relations / K.

Bhagyalakshmi, K.K. Vinod, M. Kumar, S. Arumugachamy, A. Joseph, T.S. Raveendran // J. Crop Sci. Biotechnol. 2008. 7, 257-262.

126. Biffen. R. K. Studies on the inheritance of disease resistance / R. K. Biffen // Agricultural science. Cambridge. 1907. P. 242-245.

127. Bipinraj, A. Validation and identification of molecular markers linked to the leaf rust resistance gene *Lr28* in wheat / A. Bipinraj, B. Honrao, M. Prashar, S. Bhardwaj, S. Rao, S. Tamhankar // Journal of Applied Genetics. 2011. 52:171-175.

128. Bonnett, D.G. Strategies for efficient implementation of molecular markers in wheat breeding / D.G. Bonnett, J. Rebetzke, W. Spielmeyer // Mol. Breeding. 2005. V. 15. P. 75-78.

129. Borlaug, N. E. Contributions of conventional plant breeding to food production / N. E. Borlaug // Science. 1983. 219:689–693.

130. Borner, A. The relationships between the dwarfing genes of wheat and rye /A. Borner, J. Plaschke, V. Korzun, A. Worland // Euphytica. — 1996. — V. 89. — P.69–75.

131. Borrelli, G.M. Durum wheat lipoxygenase activity and other quality parameters that affect pasta colour / G.M. Borrelli, A. Troccoli, N. Di Fonzo, C. Fares // Cereal Chem., 1999. 76: 335-340.

132. Brar, G.S. Race Characterization of Puccinia striiformis f. sp. tritici, the Cause of Wheat Stripe Rust, in Saskatchewan and Southern Alberta, Canada and Virulence Comparison with Races from the United States / G.S. Brar, R.H. Kutcher // Plant Disease. -2016. –April. - p. 1744-1753. DOI: 10.1094/PDIS-12-15-1410- RE

133. Bremenkamp-Barrett, B. Molecular mapping of the leaf rust resistance gene *Lr17a* in wheat / B. Bremenkamp-Barrett, J.D. Faris, J.P. Fellers // Crop Sci. – 2008. – V. 48. – P. 1124–1128.

134. Brennan, J.P. An economic assessment of the value of molecular markers in plant breeding programs / J.P. Brennan, A. Rehman, H. Raman, A.W. Milgate, D. Pleming, P.J. Martin // In 49th Annual Conf. of the Australian Agricultural and Resource Economics Society, Coffs Harbour, Australia, 9-11 February. 2005.

135. Breseghello F. & Sorrells, M.E. Association mapping of kernel size and milling quality in wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars // Genetics. 2006. 1165–1177.

136. Brevis, J.C. Effect of the Gpc-B1 region from *Triticum turgidum* ssp. *dicoccoides* on grain yield, thousand grain weight and protein yield / J.C. Brevis, R. Appels, R. Eastwood, J. Dubcovsky et al. // Proceedings of 11th International Wheat Genet Symposium, Brisbane Australia, August 24–29, 2008. p.1–3. Sydney University

137. Briney, A.A. PCR-based marker for selection of starch and potential noodle quality in wheat / A. Briney, R. Wilson, R. Potter // Mol.Breeding. 1998. V.4. P.427–433.

138. Brown-Guedira, G.L. Performance and mapping of leaf rust resistance transferred to wheat from Triticum timopheevii subsp. armeniacum / G.L. Brown-Guedira, Singh, A.K. Fritz // Phytopathol. – 2003. – V. 93. – P. 784–789.

139. Budashkina, E.B. Development and genetic analysis of common wheat introgressive lines resistant to leaf rust / E.B. Budashkina, N.P. Kalinina // Acta Phytopathol. Entomol. – 2001. – V. 36. – P. 61–65.

140. Buerstmayr, H. QTL mapping and marker-assisted selection for Fusarium head blight resistance in wheat / H. Buerstmayr, T. Ban, J.A. Anderson // a review. Plant breeding. 2009. 128:1-26.

141. Buntjer, J. B. Phylogeny of Bovine species based on AFLP fingerprinting / J. B. Buntjer, M. Otsen, Ies J. Nijman, M. Kuiper // February 2002 Heredity 88(1):46-51

142. Bushuk, W. Wheat cultivar identification by gliadin electrophoregrams, Appratus, method and nomenclature / W. Bushuk, R.R. Zillman // Can J Plant Sci. 1978. 58:505-515.

143. Butow, B.J. Molecular discrimination of Bx7 alleles demonstrates that a highly expressed high molecular weight glutenin allele has a major impact on wheat flour dough strength / B.J. Butow, W. Ma, K.R. Gale, G.B. Cornish et al. // Theor Appl Genet. 2003. 107:1524-1532.

144. Butow, B.J. Diversity and dissemination of Bx7 glutenin subunits revealed by novel PCR markers and RPHPLC / B.J. Butow, K.R. Gale, J. Ikea, A. Juhasz, Z. Bedo, L. Tamas, M.C. Gianibelli // Theor Appl Genet. 2004. 109:1525-1535.

145. Caballero, L. Granule-bound starch synthase (GBSS) diversity of ancient wheat and related species / L. Caballero, E. Bancel, C. Debiton, G. Branlard // Plant Breeding. 2008a; 127:548–553.

146. Cakir, M. Molecular mapping and improvement of rust resistance in the Australian wheat germplasm / M. Cakir, F. Drake-Brockman, M. Shankar // 11th International Wheat Genetics Symposium 2008. http://hdl.handle.net/2123/3317.

147. Cane, K. *Ppd-B1* and *Ppd-D1* and their effects in southern Australian wheat / K. Cane, H.A. Eagles, D.A. Laurie, B. Trevaskis et al. // Crop and Pasture Science. - 2013. - V. 64. - № 2. - P. 100-114. https://doi.org/10.1071/CP13086

153. Carrera, A. A deletion at the Lpx–B1 locus is associated with low lipoxygenase activity and improves pasta color in durum wheat (*Triticum turgidum* spp. durum) / A. Carrera, V. Echenique, W. Zhang, M. Helguera, et al. // J Cereal Sci. – 2007. – V. 45. – P. 67–77.

154. Ceoloni, C. *Triticum longissium* chromosome G ditelosomic addition lines: production, characterization and utilization / C. Ceoloni // Proc. 6th Int. 1983.Wheat Genet. Symp., Kyoto, Japan, p. 1025-1031.

155. Ceoloni, C. Pasquiri Wheat chromosome engineering at the 4x level: the potential of different alien gene transfer in to durum wheat / C. Ceoloni, M. Biagetti, M. Ciaffi, P. Forte, M. Pasquiri // Euphytica 1996. 89: 87-97.

156. Chai, J.F. Development and application of a new codominant PCR marker for detecting 1BL center dot 1RS wheat–rye chromosome translocations / J.F. Chai, R.H. Zhou, J.Z. Jia, X. Liu // Plant Breeding. 2006. 125: 302–304.

157. Chao, S. RFLP-based genetic maps of wheat homoeologous group 7 chromosomes / S. Chao, P.J. Sharp, A.J. Worland, E.J. Warham, R.M.D. Koebner, M.D. Gale // Theoretical and Applied Genetics. 1989; 78(4): 495–504.

158. Chang, C. Identification of allelic variations of puroindoline genes controlling grain hardness in wheat using a modified denaturing PAGE / C. Chang, H. Zhang, J. Xu, W. Li, G. Liu, M. You, B. Li // Euphytica. 2006. 152: 225-234.

159. Charmet, G., Storlie E. Implementation of genomewide selection in wheat / G. Charmet, E. Storlie // Russian Journal of Genetics: Applied Research. 2012. V. 2. No. 4. P. 298–303. doi: 10.1134/S207905971204003X

160. Chen, Sh. Screening wild relatives of wheat for disease resistanfnce. / Sh. Chen, Yushen Dong, Ronghua Zhou // Sci. agr. Sin. - 1989. - V. 23. - N 1. -P. 54-59.

161. Chen, X. Single nucleotide polymorphism genotyping: biochemistry, protocol, cost and throughput / X. Chen, P. Sullivan // Pharmacogenom. 2003.J.3, 77–96.

162. Chen, P. D. Transfer of PhI genes promoting homoeologous pairing from Triticum speltoides to common wheat / P. D. Chen, H. Tsujimoto, B. S. Gill // Theor. Appl. Genet. 1994. 88, 97–101.

148. Chen, F. A new puroindoline b mutation in Chinese winter wheat cultivar jingdong 11 / F. Chen, Z. He, X. Xia, C. Morris [et al.], // J Cereal Sci. 2005. 42:267-269.

149. Chen, Y. Genetic regulation of developmental phases in winter wheat / Y. Chen, B. Carver, S. Wang, S. Cao, L. Yan // Mol Breed. - 2010.-V. 26.-№ 4.- P. 573-582.

150. Chen, F. Molecular characterization and diversity of puroindoline b-2 variants in cultivated and wild diploid wheat / F. Chen, X. Shang, C.F. Morris, F. Zhang, Z. Dong, D. Cui // Genet Resour Crop Evol. 2012. DOI: 10.1007/s10722-012- 9813-y

151. Chen, F. Molecular characterization of vernalization and response genes in bread wheat from the Yellow and Huai Valley of China / F. Chen, M. Gao, J. Zhang, A. Zuo, X. Shang, D. Cui // BMC Plant Biol. - 2013. - V. 13. - P. 199.

152. Chen, L. Impact of genotype imputation on the performance of GBLUP and Bayesian methods for genomic prediction / L. Chen, C. Li, M. Sargolzaei, F. Schenkel // PLoS One. 9. 2014. Article. 101544.

153. Cherukuri, D.P. Identification of molecular marker linked to an Agropyron elongatum-derived gene *Lr19* for leaf rust resistance in wheat / D.P. Cherukuri, S.K. Gupta, A. Charpe // Plant Breeading. 2003. V.122. P. 204-208.

154. Cherukuri, D.P. Molecular mapping of Aegilops speltoides derived leaf rust resistance gene *Lr28* in wheat / D.P. Cherukuri, S.K. Gupta, A. Charpe et al. // Euphytica. – 2005. – V. 143. – P. 19–26.

155. Chhuneja, P. Identification and mapping of two powdery mildew resistance genes in *Triticum boeoticum* L. / P. Chhuneja, K. Kumar, D. Stirnweis et al. // Theor. Appl. Genet. – 2012. – V. 124. – P. 1051–1058.

156. Cloutier, S. Leaf rust resistance gene *Lr1*, isolated from bread wheat (*Triticum aestivum* L.) is a member of the large psr567 gene family / S. Cloutier, B.D. McCallum, C. Loutre // Plant Mol Biol. 2007;65:93–106.

157. Coburn, J. R. Design and application of microsatellite marker panels of rice (*Oryza sativa* L.) / J. R. Coburn, S. V. Temnykh, E. M. Paul, S. R. McCouch // Crop Sci. 2002. 42: 2092–2099.

158. Cockram J. Control of flowering time in temperate cereals: genes, domestication and sustainable productivity / J. Cockram, H. Jones, F. Leigh, D. O'Sullivan, W. Powell, D. Laurie, A. Greenland // J. Exp. Botany. – 2007. – 58, N 6. – P. 1231–1244.

159. Collard, B.C. An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: the basic concepts / B.C. Collard, M.Z. Jahufer, J.B. Brouwer // Euphytica. 2005;142(1–2):169–196.

160. Collard B.C. Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century / B.C. Collard, D.J. Mackill // Philosophical Trans Royal Soc B. 2007; 363:557–572.

161. Cox, T.S. Leaf rust resistance genes *Lr41*, *Lr42* and *Lr43* transferred from Triticum tauschii to common wheat / T.S. Cox, W.J. Raupp, B.S. Gill. // Crop Sci. - 1994. -Vol. 34. - P. 339-343.

162. Cuadrado, A. Identification of different chromatin classes in wheat using in situ hybridization with simple sequence repeat oligonucleotides / A. Cuadrado, T.

Schwarzacher, N. Jouve // Theoretical and Applied Genetics. 2000. 101: 711–717.

163. Cuadrado, A. Increasing the physical markers of wheat chromosomes using SSRs as FISH probes / A. Cuadrado, M. Cardoso, N. Jouve // Genome. 2008. 51: 809–815.

164. Dadkhodaie, N.A. Mapping genes *Lr53*and *Yr35* on the short arm of chromosome 6B of common wheat with microsatellite markers and studies of their association with *Lr36* / N.A. Dadkhodaie, H. Karaoglou, C.R. Wellings, R.F. Park // Theor. Appl. Genet. – 2011. – V. 122. – P. 479–487.

165. Daetwyler, H.D. Genomic prediction for rust resistance in diverse wheat landraces / H.D. Daetwyler, U.K. Bansal, H.S. Bariana, M.J. Hayden, B.J. Hayes // Theor. Appl. Genet., 127 2014. pp. 1795-1803

166. Dakouri, A. Fine-mapping of the leaf rust Lr34 locus in *Triticum aestivum* (L.) and characterization of large germplasm collections support the ABC transporter as

essential for gene function / A. Dakouri, B.D. McCallum, A.Z. Walichnowski, S. Cloutier // Theor Appl Genet. 2010. 121:373-384.

167. Davoyan, E.R. Allelic variants for *Waxy* genes in common wheat lines bred at the Lukyanenko national grain center / E.R. Davoyan, L.A. Bespalova, R.O. Davoyan, E.V. Agaeva, [et al.] // Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2019. T. 23. № 7. C. 910-915.

168. Deckard E.L. Grain protein determinants of the Langdon *durum–diccoides* chromosome substitution lines / E.L. Deckard, L.R. Joppa, J.J. Hammond, G.A. Hareland // Crop Sci. – 1996. – V. 36 (6). – P. 1513–1516.

169. Dedryver, F. Molecular markers linked to the leaf rust resistance gene *Lr24* in different wheat cultivars / F. Dedryver, M.F. Jubier, J. Thouvenin, H. Goyeau // Genome 39. 1996. 830–835. doi: 10.1139/g96-105

170. De Froidmont, D. A co-dominant marker for the 1BL/1RS wheat-rye translocation via multiplex PCR / D. De Froidmont // J Cereal Sci. 1998. 27:229-232

171. Dekkers, J.C.M. The use of molecular genetics in the improvement of agricultural populations / J.C.M. Dekkers, F. Hospital // Nat. Rev. Genet. 2002. 3, 22–32.

172. Delides, A. Eusport resistence gene Pch 1 *Aegilops ventricosa* is associated with a different cromosome in wheat / A. Delides, G. Doussinault // Thoret. Appl. Genet. – 1987. – V. 76. - № 4. P. 573-576.

173. DePauw, R. Lillian hard red spring wheat / R. DePauw, T. Townley-Smith, G. Humphreys, R. Knox, F. Clarke, J. Clarke // Canadian Journal of Plant Science, 2005. 85, 397–401. http://doi.org/10.4141/P04-137

174. DePauw, R.M. Stettler hard red spring wheat / R.M. DePauw, R.E. Knox, F.R. Clarke, J.M. Clarke, T.N. McCaig // Can. J. Plant Sci. 2009. 89: 945–951. doi:10.4141/CJPS08227

175. Devos, K.M. Application of two microsatellite sequences in wheat storage proteins as molecular markers / K.M. Devos, G.J. Bryan, A.J. Collins, P. Stephenson // Theor Appl Genet. 1995. 90: 247–252.

176. Dholakia, B.B. Molecular mapping of leaf rust resistance gene *Lr15* in hexaploid wheat / B.B. Dholakia, A.V. Rajwade, P. Hosmani et al. // Mol. Breed.

– 2013. – V. 31. – P. 743–747.

177. Dilbag, S. Syntetic amphidiploids of wheat as a sours of resistance to Karnal Bunt (Nevossia inica) / S. Dilbag, // Plant Breeding. -1988.-V.- 76.-№4. P. 573-576.

178. Distelfeld, A. Genetic and molecular characterization of the *VRN2* loci in tetraploid wheat / A. Distelfeld, G. Tranquilli, C. Li, L. Yan, J. Dubcovsky // Plant Physiol. - 2009. - V. 149. - № 1. - P. 245-257.

179. Dong, C.H. Allelic variation at the *TaZds-A1* locus on wheat chromosome 2A and development of a functional marker in common wheat / C.H. Dong, Z.Y. Ma, X.C. Xia, L.P. Zhang, Z.H. He // Agric Sci China. 2012. (in press)

180. D'Ovidio, R. PCR analysis to distinguish between alleles of a member of a multigene family correlated with bread making quality / R. D'Ovidio, O.D. Anderson // Theor Appl Genet. 1994. 88:759- 763.

181. D'Ovidio, R. Development of a set of oligonucleotide primers specific for genes at the *Glu1* complex loci of wheat / R. D'Ovidio, S. Masci, E. Porceddu // Theo Appl Genet. 1995. 91:189-194.

182. Doussinault, G. Transfer of a dominant gene for resistence to euspot diseaes from a wild grass to hecsoploid wheat / G. Doussinault // Nature. -1983.- V. 303. - № 5919. – p. – 698-700.

183. Dreher, K. Money matters (I): costs of field and laboratory procedures associated with conventional and marker-assisted maize breeding at CIMMYT / K. Dreher, M. Khairallah, J. Ribaut, M. Morris // Mol. Breed. 2003. 11, 221–234.

184. Driscoll, C. J. & Jensen N. E. Characteristic of leaf rust resistance transferred from rye to wheat// Crop. Sci. 1964. 4: 372-374.

185. Driscoll, C. J. & N. E. Jensen Realeas of wheat-rye translocation stock involving leaf rust and powdery mildew resistances // Crop. Sci. 1965. 5: 279-280.

186. Driscoll, C. J. & L. M. Anderson. Cytogenetic studies of Transec-a wheat-rue translocation line // Can J. Genet. Cytol. 1967. 9: 375-380.

187. Dubcovsky, J. Comparative RFLP mapping of Triticum monococcum genes controlling vernalization requirement / J. Dubcovsky, D. Lijavetzky, L. Appendino, G. Tranquilli // Theor Appl Genet. 1998. 97:968–75.

188. Dubcovsky J. Marker-assisted selection in public breeding programs: the wheat experience / J. Dubcovsky // Crop Science. 2004. 44(6):1895–1898.

189. Dubcovsky, J. and Dvorak, J. Genome Plasticity a Key Factor in the Success of Polyploid Wheat Under Domestication // Science. — 316 [Issue 5833]. — 29 June 2007. — P. 1862.

190. Duveiller, E. The challenges of maintaining wheat productivity: pests, diseases, and potential epidemics / E. Duveiller, R.P. Singh, J.M. Nicol // Euphytica. 2007. 157:417–430.

191. Dvorak, J. & D.R. Knot Homoeologous chromatin exchange in irradiation-induced gene transfer // Can.G. Genet. Cytol. 1977. 19: 125-131.

192. Dvorak, J. Transfer of leaf rust resistance from *Aegilops speltoides* to *Triticum aestivum* / J. Dvorak //In: Canadian Journal of Genetics and Cytology,1977, 19:133-141.

193. Dvorak, J. The origin of whet chromosomes 4A and 4B and their genom reallocation / J. Dvorak // Can.G. Genet. Cytol. 1983. 25: 210-214.

194. Dvorak, J. Transfer of salt tolerance from Elytrigia pontica (podp) Holub to wheat by the addition of an incomplete Elytrigia genome / J. Dvorak, K. Ross S. Mendillinger // Crop. Sci. - 1985. – V. 25. -№2.-P. 306-309.

195. Dvorak, J. Chromosomal distribution of genes in diploid Elytrigia elongata that promote or suppress pairing of wheat homoeologous chromosomes // Genome, 29. 1987. pp. 34-40

196. Dvorak, J., The evolution of polyploid wheats: identification of the A genome donor species / J. Dvorak, P. di Terlizzi, H. Zhang, P. Resta // Genome 36, 1993. 21–31.

197. Dvorak, J. The structure of the Aegilops tauschii gene pool and the evolution of hexaploid wheat / J. Dvorak, M. Luo; Z. Zhang // Theor. Appl. Genet. 1997, 657-670.

198. Dvorak, J. Discovery and mapping of wheat Ph1 suppressors / J. Dvorak, K.R. Deal, M.C. Luo // Genetics, 174. 2006. pp. 17-27

199. Dyck, P.L. Transfer of a gene for stem rust resistance from *Triticum araraticum* to hexaploid wheat / P.L. Dyck // Genome 1992. 35: 788-792.

200. Dyck, P.L. Evaluation of leaf rust resistance from wheat chromosomal translocation lines / P.L. Dyck, B. Friebe // Crop Sci 33. 1993. P. 687–690.

201. Dyck, J.A. Agronomic performance of hard red spring wheat isolines sensitive and insensitive to photoperiod / J.A. Dyck, M.A. Matus-Cadiz, P. Hucl, L. Talbert, T. Hunt, et al. // Crop Science. 2004. Nov. 1. 44 (6):1976–81.

202. Dziki, D. Physicochemical Properties and Milling Characteristics of Spring Wheat from Different Farming Systems / D. Dziki, G. Cacak-Pietrzak, U. Gawlik-Dziki, M. Swieca [et al.] // Journal of Agricultural Science and Technology, 2017. 19: 1253-1266

203. Eagles, H.A. Implementation of markers in Australian wheat breeding / H.A. Eagles, H.S. Bariana, F.C. Ogbonnaya // Australian Journal of Agricultural Research – 2001. – V. 52(11-12). – P. 1349–1356.

204. Ehdaie, B. Root biomass, water-use efficiency, and performance of wheat–rye translocations of chromosomes 1 and 2 in spring bread wheat ‘Pavon’ / B. Ehdaie, R.W. Whitkus, J.G. Waines // Crop Sci. – 2003. – V. 43. – P. 710–717.

205. Ellis, M.H. Perfect’markers for the *Rht-B1b* and *Rht-D1b* dwarfing genes in wheat / M.H. Ellis, W. Spielmeyer, K.R. Gale // Theor. Appl. Genet. – 2002. – V. 105. – P. 1038–1042.

206. Endo, T. Somatic karyotype, heterochromatin distribution, and nature of chromosome differentiation in common wheat, *Triticum aestivum* L. em Thell / T. Endo, B.S. Gill // Chromosoma – 1984. – V. 89. – P. 361–369.

207. Espi, A. A PCR-based method for discriminating between high molecular weight glutenin subunits Bx7 and Bx7* in *Triticum aestivum* L. / A. Espi, P. Giraldo, M. Rodriguez-Quijano, J.M. Carrilo // Plant Breed – 2012. – V.131. – P. 571–573 DOI:10.1111/j.1439– 0523.2012.01961.x

208. Faris, J.D. Candidate gene analysis of quantitative disease resistance in wheat / J.D. Faris, W.L. Li, D.J. Liu, P.D. Chen et al. // Theor. Appl. Genet. – 1999. – V. 98. – P. 219–225.

209. Farrer, W. Some notes on the wheat "Bobs": its peculiarities, economic value and origin / W. Farrer // Agric. Gaz. N.S.W. – 1904. – V.15. – P. 849–854.

210. Feldman, M. Cytogenetic and molecular approaches to alien gene transfer in wheat. / M. Feldman // Proc 7th Int. Wheat Genet. Symp. – 1988. – V.1. – P. 23–32.

211. Feuillet, C. Genetic and physical characterization of the *Lr1* leaf rust resistance locus in wheat (*Triticum aestivum* L.) / C. Feuillet, M. Messmer, G. Schachermayr, B. Keller // Mol. Genet. – 1995. – V. 248. – P. 553–562.

212. Feuillet, C. Molecular markers for disease resistance: the example wheat / C. Feuillet, B. Keller, H. Lörz, G. Wenzel // Biotechnology in Agriculture and Forestry. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag. – 2005. – V. 55. – P. 353–370.

213. Flintham, J.E. Heterosis, overdominance for grain yield, and alpha-amylase activity in F-1 hybrids between near-isogenic *Rht* dwarf and tall wheats / J.E. Flintham, W.J. Angus, M.D. Gale // Agri. Sci. – 1997. – V. 129. P. 371–378.

214. Francis, H.A. Conversion of a RAPD-generated PCR product, containing a novel dispersed repetitive element, into a fast and robust assay for the presence of rye chromatin in wheat / H.A. Francis, A.R. Leitch, R.M.D. Koebner // Theor. Appl. Genet. – 1995. – V. 90. – P. 636–642

215. Friebe, B. Identification of a complete set of isogenic wheat-rye D- genome Substitution lines by means of Giemsa C- banding / B. Friebe, E.N. Larter // Theor. Appl. Genet. – 1988. – V.78. – P. 473–479.

216. Friebe, B. Transfer of Hessian fly resistance from "Chaupon" rye to hexaploid wheat via a 2BS/2RL wheat-rye chromosom translocation / B. Friebe, J.H. Hatchett, R.G. Sears, B.S. Gill // Theor. Appl. Genet. - 1990. - V. 79. - P. 385–389.

217. Friebe, B. Identification of alien chromatin specifying resistance to wheat streak mosaic virus and greenbug in wheat germ plasm by C-banding and situ hybridization / B. Friebe, Y. Mukai, H.S. Dhaliwal, T.J. Martin et al. // Theor. Appl. Genet. – 1991. – V. 81. – P. 381–389.

218. Friebe, B. X-ray induced transfer of Hessian fly resistance from “Balbo” rye to hexaploid wheat analuzed by the C- banding technique / B. Friebe, J.H. Hatchett, Y. Mukai, B.S. Gill et al. // Proc. 2nd int. Symp. Chromosome Eng. In plants, Columbia, Missouri, USA. – 1991. – P. 189–194.

219. Friebe, B. C-banding pattern and polymorphism of *Aegilops caudata* and chromosomal constitutions of the am-phiploid *Triticum aestivum – Aegilops caudata* and six derived chromosome add-tion lines / B. Friebe, V. Shubert, W.D. Blutner, K. Hammer

// Theor. Appl. Genet. – 1992. – V 83 (4). – P. 589–596.

220. Friebe, B. Cytogenetically monitored transfer of powdery mildew resistance from rye into wheat / B. Friebe, M. Heun, N. Tuleen, F.G. Zeller et al. // Crop Sci. – 1994a. – V. 34. – P. 621–625.

221. Friebe, B. Compensation indices of radiation-induced wheat-*Agropyron elongatum* translocations conferring resistance to leaf rust and stem rust / B. Friebe, J. Jiang, D.R. Knot, B.S. Gill // Crop. Sci. – 1994b. – V.34. – P. 400–404.

222. Friebe, B. Standard kariotype of *Triticum umbellulatum* and the identification of *Triticum umbellulatum* chromatin in common wheat / B. Friebe, N.A. Tuleen, J. Jiang, B.S. Gill // Theor. Appl. Genet. – 1995a. – V.90. – P. 150–156.

223. Friebe, B. Standard kariotype of Triticum searsii and its relationships with other S-genome species / B. Friebe, N.A. Tuleen, B.S. Gill // Theor. Appl. Genet. – 1995b. – V. 91. – P.248–255.

224. Friebe, B. Molecular cytogenetic analysis of irradiation-induced allien gene transfer in wheat / B. Friebe, J. Jiang, W.R. Raupp, B.S. Gill et al. // Proc. 8th Int. Wheat Genet. Symp. Beiging, China. – 1995. – P. 519–529.

225. Friebe, B. Characterization of wheat-alien translocation conferring resistance to diseases and pests: current status / B. Friebe, J. Jiang, W.J. Raupp, R.A. McIntosh et al. // Euphytica. – 1996. – V.91. – P.59–87.

226. Frisch, M. Comparison of selection strategies for marker-assisted backcrossing of a gene / M. Frisch, M. Bohn, A.E. Melchinger // Crop. Sci. – 1999. – V. 39. – P. 1895–1898.

227. Fu, D. Large deletions within the first intron in *VRN-1* are associated with spring growth habit in barley and wheat / D. Fu, P. Szucs, L. Yan, M. Helguera // Mol. Gen. Genomics. – 2005. – V. 273. – P.54–65.

228. Gale, M.D. Dwarfing genes in wheat / M.D. Gale, S. Youssefian // In: Russell GE(ed) Progress in plant breeding. Butterworths and Co. London – 1985. – P. 1–35.

229. Gale, M.D. & Devos, K.M. Plant comparative genetics after 10 years / M.D. Gale, K.M. Devos // Plant Science – 1998. – V. 282. – P. 656–659.

230. Galiba, G. RFLP mapping of the vernalization (*Vrn1*) and frost resistance

(*Fr1*) genes on chromosome 5A of wheat / G. Galiba, S.A. Quarrie, J. Sutka, A. Morgounov et al. // Theor. Appl. Genet. – 1995. – V. 90. – P. 1174–1179.

231. Ganal, M.W. Microsatellite and SNP markers in wheat breeding / M.W. Ganal, M.S. Röder // Genomics-assisted crop improvement. eds. Varshney R.K., Tuberosa R. – New York: Springer – 2007. – P. 1–24.

232. Gassner, G. Die Bestimmung der biologischen Rasses des Weizengelbrostes (*Puccinia glumarum* f.sp. tritici (Schm.) Erikss. and Henn.) / G. Gassner, W. Straib // Arb. Biol. Reichsanst. – 1932. – V. 21. – P. 141–164.

233. Geng, H. Molecular markers for tracking variation in lipoxygenase activity in wheat breeding / H. Geng, Y. Zhang, Z. He, L. Zhang et al // Mol. Breed. – 2011. – V. 28 (1). – P. 117–126.

234. Geng, H. W. Cloning the lipoxygenase gene on chromosome 4BS and development of functional markers in common wheat / H.W. Geng, Z.H. He, L.P. Zhang, Y.Y. Qu et al. // Crop Sci. – 2012. – P. 52. DOI: 10.2135/cropsci2011.07.0365

235. Gerlach, W.L. Cloning and characterization of ribosomal RNA genes from wheat and barley / W.L. Gerlach, J.R. Bedbrook // Nucleic Acids Research. – 1979. – V. 7. – P. 1869–1885.

236. Gerlach, W.L. Sequence organization of the repeating units in the nucleus of wheat which contain 5S rRNA genes / W.L. Gerlach, T.A. Dyer // Nucleic Acids Research. – 1980. – V. 8. – P. 4851–4865.

237. Gill, B.S. Giemsa C-banding and the evolution of wheat / B.S. Gill, G. Kimber // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America – 1974. – V. 71. – P. 4086–4090.

238. Gill, B.S. Evaluation of Aegilops species for resistance to wheat powdery mildew, wheat leaf rust, hessian fly, and greenbug. / B.S. Gill, H.C. Sharma, W.J. Raupp, L.E. Browder, et al. // Plant Disease – 1985. – V. 69. – 4. – P. 314–316.

239. Gill, B.S. Direct genetic transfers from *Aegilops squarrosa* L. to hexaploid wheat / B.S. Gill, W.J. Raupp // Crop Sci. – 1987. – V. 27. – P. 445–450.

240. Gill, B.S. Standard kariotype and nomenclature system for description of chromosome bands and structural aberrations in wheat (*Triticum aestivum*) / B.S. Gill,

B. Friebe, T.R. Endo // Genome – 1991. – V. 34. – P. 830–839.

241. Gill, B.S. Registration of KS93WGRC27 wheat streac mosaic virus-resistant T4DL.4Ai#2S wheat germplasm. / B. S. Gill, B. Friebe, D.L. Wilson, T.S. Cox // Crop. Sci. – 1995. – V. 35. – P. 1236-1237.

242. Giroux, M.J. & Morris, C.F. A glycine to serine change in puroindoline b is associated with wheat grain hardness and low levels of starch surface friabilin / M.J. Giroux, C.F. Morris // Theor Appl Genet. – 1997. – V. 95. – P. 857–864

260. Giroux, M.J. & Morris, C.F. Wheat grain hardness results from highly conserved mutations in the friabilin components puroindoline a and b / M.J. Giroux, C.F. Morris // Proc Natl Acad Sci. – 1998. – V. 95. – P. 6262-6266.

243. Gold, J. Development of a molecular marker for rust resistancegenes *Sr39* and *Lr35* in wheat breeding lines / J. Gold, D. Harder, F. Townsley-Smith // Electron J Biotechnol. – 1999. – V. 2. – P. 1–6.

244. Goncharov, N.P. Genetic resources of wheat related species: the *Vrn* genes controlling growth habit (spring vs. winter) / N.P. Goncharov // Euphytica – 1998. – V. 100. – P. 371–376.

245.Gooding, M.J. Reduced height alleles (*Rht*) and Hagberg falling number of wheat / M.J. Gooding, R.K. Uppal, M. Addisu, K.D. Harris, C. Uauy // J Cereal Sci. – 2012. –V. 55. – P. 305–311.

246. Guo, Z. Discovery, evaluation and distribution of haplotypes of the *Ppd-D1* gene / Z. Guo, Y. Song, R. Zhou, Z. Ren // New Phytol. – 2010. – V.185. – P. 841–851.

247. Gultyaeva, E.I. Diversity of *Puccinia triticina* fungus in Russia in 2002–2013 / E.I. Gultyaeva, E.L. Shaidayuk, O.A. Baranova, A. Sadovaya et al. // 11th Conf. of the Eur. Foundation for Plant Pathology, Healthy plants – healthy people. 8–13oktober 2014. Krakow, Poland. Book of abstracts. – P. 199.

248. Gupta, R.B. Allelic variation at glutenin subunit and gliadin loci, Glu-1, Glu-3 and Gli-1 of bread wheats: biochemical basis of the allelic effects on dough properties. / R.B. Gupta, F. MacRitchie // J. Cereal Sci. – 1994. – V.19. – P. 19–28

249. Gupta, S.K. Development and validation of molecular markers linked to an *Aegilops umbellulata*–derived leaf rust-resistance gene, *Lr9*, for marker-assisted selection

in bread wheat / S.K. Gupta, A. Charpe, S. Koul, K.V. Prabhu et al. // Genome. – 2005. – V. 48. – P. 823–830.

250. Gupta, P.K. Linkage disequilibrium and association studies in higher plants: present status and future prospects. / P.K. Gupta, S. Rustgi, P.L. Kulwal // Plant Mol. Biol. – 2005. –V. 57. – P. 461–485.

251. Gupta, S.K. Identification and validation of molecular markers linked to the leaf rust resistance gene *Lr19* in wheat / S.K. Gupta, A. Charpe,·K.V. Prabhu, Q.M.R. Haque // Theor. Appl. Genet. – 2006a. – V. 113. – P. 1027–1036.

252. Gupta, V.S. Molecular mapping of leaf rust resistance gene *Lr15* in bread wheat / V.S. Gupta, R.R. Khan, A.V. Rajwade et al. // Proceed. 11th Intern. Wheat Genetics Symp; eds. Appels R., Eastwood R., Lagudah E. – Sydney: Sydney University Press. – 2008. http://hdl.handle.net/2123/3318.

253. Gupta, P.K. Wheat genetics in the post-genomics era / P.K. Gupta, H.S. Balyan, R.R. Mir // Curr. Sci. – 2008. – V. 95. – P. 1660–1662.

254. Guzmán, C. Molecular characterization of the *Wx-B1* allelic variants identified in cultivated emmer wheat and comparison with those of durum wheat / C. Guzmán, L. Caballero, J.B. Alvarez // Mol. Breed. – 2011. – V. 28. – P. 403–411.

255. Hai, L. Classification of wheat low-molecular-weight glutenin subunit genes and its chromosome assignment by developing LMW-GS group-specific primers / L. Hai, M. Yu, H. Ze, B. Bernard et al. // Theor. Appl. Genet. – 2005. – V. 111. – P. 1251–1259.

256. Haseneyer, G. From RNA-seq to large-scale genotyping – Genomics resources for rye (*Secale cereale* L.) / G. Haseneyer, T. Schmutzer, M. Seidel, R. Zhou et al. // BMC Plant Biol. – 2011. – V. 11. – 131 p.

257. Hayakawa, K. End use quality of *waxy* wheat flour in various grain-based foods / K. Hayakawa, K. Tanaka, T. Nakamura, S. Endo et al. // Cereal Chem. – 2004. – V. 81 (5). – P. 666–672.

258. Hayward, S. Lipoxygenases: from isolation to application / S. Hayward, T. Cilliers, P. Swart // Compr. Rev. Food Sci. Food Saf. – 2017. – V. 16. – P. 199–211.

259. Hazen, S.P. Gene arrays are not just for measuring gene expression. / S.P. Hazen, S.A. Kay // Trends Plant Sci. – 2003. – V. 8. – P. 413–416.

260. He, X.Y. Allelic variation of polyphenol oxidase (*PPO*) genes located on chromosomes 2A and 2D and development of functional markers for the *PPO* genes in common wheat / X.Y. He, Z.H. He, L.P. Zhang, D.J. Sun et al. // Theor. Appl. Genet. – 2007. – V. 115. – P. 47–58

261. He, X.Y. Characterization of phytoene synthase 1 gene (*Psy1*) located on common wheat chromosome 7A and development of a functional marker / X.Y. He, Y.L. Zhang, Z.H. He, Y.P. Wu et al. // Theor. Appl. Genet. – 2008. – V. 116. – P. 213–221

262. He, X.Y. Allelic variants of phytoene synthase 1 (*Psy1*) genes in Chinese and CIMMYT wheat cultivars and development of functional markers for flour colour / X.Y. He, Z.H. He, W. Ma, R. Appels et al. // Mol Breed. – 2009a. – V. 23. – P. 553–563.

263. Hedden, P. The genes of the Green Revolution / P. Hedden // Trends Genet. – 2003. – V. 19. – P. 5–9.

264. Heffner, E.L. Plant breeding with genomic selection: gain per unit time and cost / E.L. Heffner, A.J. Lorenz, J.L. Jannink, M.E. Sorrells // Crop Sci. – 2010. – V. 50. – P. 1681-1690

265. Helguera, M. Development of PCR markers for wheat leaf rust resistance gene *Lr47* / M. Helguera, I.A. Khan, J. Dubcovsky // Theor. Appl. Genet. – 2000. – V. 101. – P. 625–631.

266. Helguera, M. PCR assays for the *Lr37-Yr17-Sr38* cluster of rust resistance genes and their use to develop isogenic hard red spring wheat lines / M. Helguera, I.A. Khan, J. Kolmer et al. // Crop Sci. – 2003. – V. 43. – P. 1839–1847.

267. Helguera, M. PCR markers for Triticum speltoides leaf rust resistance gene *Lr51* and their use to develop isogenic hard red spring wheat lines / M. Helguera, L. Vanzetti, M. Soria et al. // Crop Sci. – 2005. – V. 45. – P. 728–734.

268. Herrera-Foessel, S.A. Identification and mapping of *Lr3* and a linked leaf rust resistance gene in durum wheat / S.A. Herrera-Foessel, R.P. Singh, J. Huerta-Espino et al. // Crop Sci. – 2007. – V. 47. – P. 1459–1466.

269. Herrera-Foessel, S.A. Identification and molecular characterization of leaf rust resistance gene *Lr14a* in durum wheat / S.A. Herrera-Foessel, R.P. Singh, J. Huerta-Espino et al. // Plant Disease. – 2008a. – V. 92. – P. 469–473.

270. Herrera-Foessel, S.A. Molecular mapping of a leaf rust resistance gene on the short arm of chromosome 6B of durum wheat / S.A. Herrera-Foessel, R.P. Singh, J. Huerta-Espino et al. // Plant Disease. – 2008b. – V. 92. – P. 1650–1654.

271. Herrera-Foessel, S.A. New slow-rusting leaf rust and stripe rust resistance genes *Lr67* and *Yr46* in wheat are pleiotropic or closely linked / S.A. Herrera-Foessel, E.S. Lagudah, J. Huerta-Espino et al. // Theor. Appl.Genet. – 2011. – V. 122. – 239–249.

272. Herrera-Foessel, S.A. *Lr68*: A new gene conferring slow rusting resistance to leaf rust in wheat / S.A. Herrera-Foessel, R.P. Singh, J. Huerta-Espino et al. // Theor. Appl. Genet. – 2012. – V. 124. – P. 1475–1486.

273. Herrera-Foessel, S.A. Mapping of a race-specific leaf rust resistance gene in Mexican durum wheat cultivar Atil C2000 / S.A. Herrera-Foessel, J. Huerta-Espino, V Calvo-Salazar et al. // Draft manuscript – 2013.

274. Hessler, T.G. Association of a lipoxygenase locus, Lpx–B1, with variation in lipoxygenase activity in durum wheat seeds / T.G. Hessler, M.J. Thomson, D. Benscher, M.M. Nachit et al. // Crop Sci. – 2002. – V. 42 (5). – P. 1695–1700.

275. Heun, M. & Friebe, B. Introgression of powdery mildew resistance from rye into wheat. // M. Heun, B. Friebe // Phytopathologe – 1990. – V. 80. – P. 242-245.

276. Heun, M. Chromosomal location of the powdery mildew resistance gene of Amigo wheat / M. Heun, B. Friebe, W. Bushuk // Phytopathologe – 1990. – V. 80. – P. 1112–1133.

277. Hiebert, C. Locating the broad-spectrum wheat leaf rust resistance gene *Lr52* (*LrW*) to chromosome 5B by a new cytogenetic method / C. Hiebert, J. Thomas, B. McCallum // Theor. Appl. Genet. – 2005. – V. 110. – P. 1453–1457.

278. Hiebert, C.W. Microsatellite mapping of adult-plant leaf rust resistance gene *Lr22a* in wheat / C.W. Hiebert, J.B. Thomas, D.J. Somers, B.D. McCallum et al. // Theor. Appl. Genet. – 2007. – V. 115. – P. 877–884.

279. Hiebert, C.W. Genetic mapping of the wheat leaf rust resistance gene *Lr60* (*LrW2*) / C.W. Hiebert, J.B. Thomas, B.D. McCallum, D.J. Somers // Crop Sci. – 2008. – V. 48. – P. 1020–1026.

280. Hiebert, C.W. An introgression on wheat chromosome 4DL in RL6077

(Thatcher*6/PI 250413) confers adult plant resistance to stripe rust and leaf rust (*Lr67*) / C.W. Hiebert, J.B. Thomas, B.D. McCallum et al. // Theor. Appl. Genet. – 2010a. – V. 121. – P. 1083–1091.

281. Hoffmann, B. Alteration of drought tolerance of winter wheat caused by translocation of rye chromosome segment 1R / B. Hoffmann // Cereal Res. Commun. – 2008. – V. 36. – P. 269–278.

282. Hogg, A.C. Hard wheat milling and bread baking traits affected by the seedspecific overexpression of puroindolines / A.C. Hogg, B. Beecher, J.M. Martin, F. Meyer et al. // Crop Sci. – 2005. – V. 45. – P. 871–878.

283. Hollenhorst, M.M. Chromosomal location of the of gene for resistance to green- bug in largo and Amigo wheats / M.M. Hollenhorst, L.R. Joppa // Agron. Abstr.– 1981.– 63 p.

284. Hollenhorst, M.M. Chromosomal location of the gene for resistance to greenbug in largo and Amigo wheats / M.M. Hollenhorst, L.R. Joppa // Crop Sci. – 1983.– V. 23.–P. 91–93.

285. Hospital, F. Marker-assisted breeding. / F. Hospital // In: Newbury H.J., editor. Plant molecular breeding. Oxford and Boca Raton: Blackwell Publishing and CRC Press.– 2003. – P. 30–59.

286. Hospital, F. Selection in backcross programmes / F. Hospital // Philosophical Trans Royal Soc. B. – 2005. – V. 360. – P. 1503–1511.

287. Hospital, F. Challenges for effective marker-assisted selection in plants / F. Hospital // Genetica – 2009. – V. 136. – P. 303–310.

288. Hristov, N. Genotype by environment interactions in wheat quality breeding programs in southeast Europe / N. Hristov, N. Mladenov, V. Djuric, A. Kondic-Spika [et al.] // Euphytica. 2010. 174:315–324. doi: 10.1007/s10681-009-0100-8.

289. Hsam, S.L. Transfer of Amigo wheat powdery mildew resistance gene *Pm17* from *T1AL*1RS to the T1BL*1RS* wheat–rye translocation chromosome / S.L. Hsam, M. Cermeno, B. Friebe, F.G. Zeller // Heridity – 1995. – V. 74. – P. 497–501.

290. Huang, L. An RGA – like marker detects all known *Lr21* leaf rust resistance gene family members in Aegilops tauschii and wheat / L. Huang, B.S. Gill // Theor. Appl.

Genet. – 2001. – V. 103. – P. 1007–1013.

291. Huang, L. Map-based cloning of leaf rust re- sistance gene *Lr21* from the large and polyploid genome of bread wheat / L. Huang, S.A. Brooks, W. Li // Genetics – 2003. – V. 164. – P. 655–664.

292. Huebner, F.R. Fractionation and quantitative differences of glutenin from wheat varieties varying in baking quality / F.R. Huebner, J.S. Wall // Cereal Chem. – 1976. – V. 53. – P. 258–269.

293. Hulbert, S.H. Resistance gene complexes: evolution and utilization / S.H. Hulbert, C.A. Webb, S.M. Smith, Q. Sun // Ann. Rev. Phytopathology. – 2001. – V. 39. – P. 285–312.

294. Ikeda, T.M. Characterization of low-molecular-weight glutenin subunit genes and their protein products in common wheats / T.M. Ikeda, E. Araki, Y. Fujita, H. Yano // Theor Appl Genet. – 2006. – V. 112. – P. 327–334.

295. Ingala, L. Genetic analysis of leaf rust resistance genes and associated markers in the durable resistant wheat cultivar Sinvalocho MA. / L. Ingala, M. Lopez, M. Darino, M.F. Pergolesi et al. // Theor. Appl. Genet. – 2012. – V. 124. – P. 1305–1314.

296. Iqbal, M. A genetic examination of early flowering and maturity in Canadian spring wheat / M. Iqbal, A. Navabi, D.F. Salmon, R.C. Yang et al. // Canadian journal of plant science. – 2006. – V.86 (4). – P. 995–1004. https:// doi.org/10.1139/G07-028

297. Jaccoud, D. Diversity arrays: a solid state technology for sequence information independent genotyping / D. Jaccoud, K. Peng, D. Feinstein, A. Kilian // Nucleic Acids Res. – 2001. – V. 29. – 25 p.

298. Jakobson, I. Adult plant and seedling resistance to powdery mildew in a *Triticum aestivum x Triticum militinae* hybrid line / I. Jakobson, H. Peusha, L. Timofejeva, K. Järve // Theor. Appl. Genet. – 2006. – V. 112. – P. 760–769.

299. Jakobson, I. Fine mapping, phenotypic characterization and validation of non-race-specific resistance to powdery mildew in a wheat–*Triticum militinae* introgression line / I. Jakobson, D. Reis, A. Tiidema et al. // Theor. Appl. Genet. – 2012. – V. 125. – P. 609–623.

300. Jander, G. Arabidopsis map-based cloning in the post-genome era / G. Jander,

S. Norris, S. Rounsley, D.F. Bush et al. // *Plant Physiol.* – 2002. – V. 129. – P. 440–450.

301. Jiang, J. Current status and the future of fluorescence in situ hybridization (FISH) in plant genome research / J. Jiang, B.S. Gill // Genome. – 2006. – V. 49. – P. 1057–1068.

302. Jiang, J. Recent advances in alien gene transferin wheat / J. Jiang, B. Friebe, B. S. Gill // Euphytica. – 1994. – V. 73. – P. 199–212.

303. Jorgensen, J. H. Genes for resistance to wheat Powdery mildew in derivativesof *Triticum timopheevii* and *Triticum carthlicum* / J.H. Jorgensen, C.J. Jensen, G. Doussinauult, F. Dosba // Euphytica. – 1972. – V. 21 (1). – P. 121–128.

304. Jung, C. Flowering time control and applications in plant breeding / C. Jung, A.E. Muller // Trends Plant Sci. – 2009. – V. 14. – P. 563–573.

305. Kadam, D.C. Genomic prediction of single crosses in the early stages of a maize hybrid breeding pipeline G3-Genes / D.C. Kadam, S.M. Potts, M.O. Bohn, A.E. Lipka, A.J. Lorenz // Genomes Genet., 6. 2016. pp. 3443-3453

306. Kaltsikes, P. J. *Durum*-type wheat with high bread making quality / P. J. Kaltsikes, L.E. Evans, W. Bushuk // Science. 1968.159: 211-213.

307. Karsai, I. The influence of photoperiod on the *Vrn-H2* locus (4H) which is a major determinant of plant development and reproductive fitness traits in a faculta-tive× winter barley (*Hordeum vulgare* L.) mapping population / I. Karsai, K. Me´sza´ros, P. Szűcs, P.M. Hayes, L. La´ng, Z. Bedő // Plant breeding. 2006 Oct 1; 125(5):468–

308. Kato, K., Yokoyama H. Geographical variation in heading characters among wheat landraces, *Triticum aestivum* L., and its implication for their adaptability / K. Kato, H. Yokoyama // Theor Appl Genet. - 1992. - V. 84. - № 4. - P. 259-265.

309. Kerber, E. R. Wheat: Reconstitution of the tetraploid component (AABB) of hexaploid. / E. R. Kerber // Science. - 1964. - V. 143. - P. 242-255.

310. Kerber, E.R. & P.L. Dyck Transfer to hexaploid wheat of linked genes for adult-plant leaf rust and seedling stem rust resistance from an amphiploid of *Aegilops speltoides* x *Triticum monococcum* // Genom. 1990. 33: 530-537.

311. Kerber, E.R. Resistence to leaf rust in hexaploid wheat: lr 32 a third gene derived from *Triticum tauschii /* E.R. Kerber // Crop Sci. -1987. –V. 27. –P. 204-206.

312. Keyes, G. J. The effects of dwarfing genes *Rht1* and *Rht2* on cellular dimensions and rate of lraf elongation in wheat / G. J. Keyes, D. J. Paolillo, M. E. Sorrells // Annuals of Botany. – 1989. – Vol. 64. – P. 683 – 690.

313. Khan, R.R. Molecular mapping of stem and leaf rust resistance in wheat / R.R. Khan, H.S. Bariana, B.B. Dholakia et al. // Theor. Appl. Genet. – 2005.– V. 111. – P. 846–850.

314. Khelifi, D. The effects of HMW and LMW subunits of glutenin and of gliadins on the technological quality of the progeny from four crosses between poor breadmaking quality and strong wheat cultivars / D. Khelifi, G. Branlard // J Cereal Sci. 1992. 195-209

315. Khlestkina E.K. A new gene controlling the flowering response to photoperiod in wheat / E.K. Khlestkina, A. Giura, M.S. Röder, A. Börner // Euphytica.–2009.–V. 165.–P. 579–585.

316. Khotyljov, L. Influence of genetic systems of *Vrn*- and *Ppd* genes on the ecological adaptation of wheat and triticale / L. Khotyljov, L. Kaminskaya, L. Koren // Pradzia. LEIDINIaL. Biologija. – 2002. – N 4. – P. 45–48.

317. Kibrige- Sebunya, I. & D. R. Knot Transfer of stem rust resistance to wheat from an *Agropiron* chromosome having a gametocidal effect // Can. J. Genet. Cytol. 1983. 25:215-221.

318. Kihara, H. Uber zytologische Studien bei einigen Getreidearten / H. Kihara // I. Spezies-Bastarde des 1919.

319. Kihara, H. Some aspects of the new amphidiploids synthesized from the Hybrids Emmer wheat –*Ae. Squarrosa* var. strangulate / H. Kihara, K. Yamashita, H. Tanaka, J. Tabushi // Wheat inform serv.- 1957. - №6 –P. 13-14

320. Kim, W. Agronomic effect of wheat-rye translocation carrying rye chromatin (1R) from different sources / W. Kim, P.S. Jonson, P.S. Baenziger, A.J. Lukaszewski, C.S. Gaines // Crop Sci. - 2004. – V. 44. – P. 1254–1258.

321. Kimber, G. The addition of the chromosomes of *Aegilops umbellulata* to *Triticum aestivum* (var. Chinese Spring). Genet. Research.-1967a.-V.9.-№1. - P. 111-115

322. Kimber, G. The analysis of meiosis of hybrids. Tetraploid hybrids / G. Kimber, L.S. Alonso // Canad. J. Genet. Cytol. 1981. V. 23. №3: 201-263.

323. Kimber, G. Genomic relationships in *Triticum* and the availability of alien germplasm / G. Kimber // In Biodiversity and Wheat Improvement (A. B. Damania ed.). - ICARDA. - 1993. - P.9-17.

324. Kiribuchi-Otobe C. Production of hexaploid wheats with waxy endosperm character / C. Kiribuchi-Otobe, T. Nagamine, T. Yanagisawa, M. Phnishi, I. Yamaguchi // Cereal Chemistry. 1997. 74: 72–74.

325. Klindworth, D.L. Agronomic and quality characteristics of two new sets of Langdon durum-wild emmer wheat chromosome substitution lines / D.L. Klindworth, G.A. Hareland, E.M. Elias, J.D. Faris, S. Chao, S.S. Xu // J. Cereal Sci. 2009. 50, 29–35.

326. Kloppers, F. J. & Pretorius, Z. A. Effects of combinations amongst genes *Lr13*, *Lr34* and *Lr37* on components of resistance in wheat to leaf rust // *Plant Pathology*. 1997. *46*(5), 737-750.

327. Knot, D.R. The inheritance of rust resistance. VI. The transfer of stem rust resistonce from *Agropiron elongatum* to common wheat / D.R. Knot // Can. J. Plant Sci. 1961. 41:109-123.

328. Knot, D.R. Translocations involving *Triticum* chromosomes and *Agropiron* chromosomes carrying rust resistonce / D. Knot // J. Genet. Cytol. 1968. 10: 695-696.

329. Knot, D.R. The transfers to wheat and homology of an *Agropiron elongatum* chromosome carrying a resistance gene to stem rust / D.R. Knot, J. Dvorak, J.S. Nanda // Can. J. Genet. Cytol. 1977. 19: 75-79.

330. Knot, D.R. Mutation of gene Fore yellow pigment linked to *lr19* in wheat / D.R. Knot // Can. J. Genet. Cytol. 1980. 22: 651-654.

331. Knot, D.R. The genetic nature of mutations of a gene for yellow pigment linked to *lr19* “Agata” wheat / D.R. Knot // Can. J. Genet. Cytol. 1984. 26:392-393.

332. Knott, D.R. Transferring alien genes to wheat. / D.R. Knott // Wheat and wheat improvement. Second edition. - 1987. - P. 462 - 471.

333. Koebner, R.M. Generation of PCR-based markers for the detection of rye chromatin in a wheat background / R.M. Koebner // Theor Appl Genet. 1995. 90:740-745

334. Koebner, R.M.D. Summers R. W. 21st century wheat breeding: plot selection or plate detection / R.M.D. Koebner // Trends Biotech. 2003. 21, 59–63.

335. Kolmer, J.A. Chromosome location, linkage with simple sequence repeat markers, and leaf rust resistance conditioned by gene *Lr63* in wheat / J.A. Kolmer, J.A. Anderson, J.M. Flor // Crop Sci. – 2010. – V. 50. – P. 2392–2395.

336. Komuro, S, Endo R, Shikata K, Kato A. Genomic and chromosomal distribution patterns of various repeated DNA sequences in wheat revealed by a fluorescence in situ hybridization procedure / S. Komuro, R. Endo, K. Shikata, A. Kato // Genome. 2013. 56: 131–137.

337. Koo, D.H. Homoeologous recombination in the presence of Ph1 gene in wheat / D.H. Koo, W. Liu, B. Friebe, B.S. Gill // Chromosoma, 126. 2017. pp. 531-540

338. Kong, L. Environmental modification of wheat grain protein accumulation and associated processing quality / L. Kong, J. Si, B. Zhang, B. Feng, S. Li, F. Wang // a case study of China. Aust J Crop Sci. 2013. 7:173–181.

339. Košner, J. Chromosome substitutions with dominant loci *Vrn-1* and their effect on developmental stages of wheat / J. Košner, K. Pankova // Czech J Genet Plant Breed. 2004;40(2):37–44.

340. Korzun, V. Genetic analysis of the dwarfing gene Rht8 in wheat. Part I. Molecular mapping of *Rht8* on the short arm of chromosome 2D of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) / V. Korzun, M. Roder, M. Ganal, A.J. Worland // Theoretical and Applied Genetics. — 1998. — V. 96. — P. 1104–1109.

341. Krolow K.D. Untersuchungen über die Kreuzbarkeit zwischen Weizen und Roggen. Z Pflanzenzücht. 1970. 64, 44-72

362. Kruse, A. *Hordeum* x *Triticum* hybrids / A. Kruse // Hereditas, 1973. 73: 157-161.

342. Kuchel, H. Genetic and economic analysis of a targeted marker-assisted wheat breeding strategy / H. Kuchel, G. Ye, R. Fox, S. Jefferies // Molecular Breeding. 2005;16 (1):67–78.

343. Kuchel, H. The successful application of a marker-assisted wheat breeding strategy. Molecular Breeding / H. Kuchel, R. Fox, J. Reinheimer // 2007; 20(4):295–308.

344. Kumar, A.A. Effect of the leaf rust resistance gene *Lr28* on grain yield and bread-making quality of wheat / A.A. Kumar, P. Raghavaiah // Plant Breeding. 2004. V. 123 (1). P. 35-38.

345. Kumar, J. Marker assisted selection for pre-harvest sprouting tolerance and leaf rust resistance in bread wheat / J. Kumar, R.R. Mir, N. Kumar, A. Kumar, A. Mohan, K. Prabhu, H.S. Balyan // Gupta Plant Breed (resubmitted after minor revision). 2009.

346. Kuraparthy, V. Characterization and mapping of cryptic alien introgression from *Aegilops geniculata* with new leaf rust and stripe rust resistance genes *Lr57* and *Yr40* in wheat / V. Kuraparthy, P. Chhuneja, H.S. Dhaliwal, S. Kaur, R.L. Bowden, ·B.S. Gill // Theor. Appl. Genet. – 2007a. – V. 114. – P. 1379–1389.

347. Kuraparthy, V. A Cryptic wheat–Aegilops triuncialis translocation with leaf rust resistance gene *Lr58* / V. Kuraparthy, S. Sood, P. Chhuneja, H.S. Dhaliwal, S. Kaur, R.L. Bowden, B.S. Gill // Crop Sci. – 2007b. – V. 47. – P. 1995–2003.

348. Kuraparthy, V. Development of a PCR assay and marker-assisted transfer of leaf rust and stripe rust resistance genes *Lr57* and *Yr40* into hard red winter wheats / V. Kuraparthy, S. Sood, D.R. See, B.S. Gill // Crop Sci. – 2009. – V. 49. – P. 120– 126.

349. Kuraparthy, V. Development of a PCR assay and marker-assisted transfer of leaf rust resistance gene *Lr58* into adapted winter wheats / V. Kuraparthy, S. Sood, G. Brown-Guedira, B.S. Gill // Euphytica. – 2011. – V. 180. – P. 227–234.

350. Labuschagne, M.T. The influence of leaf rust resistance genes *Lr29, Lr34, Lr35* and *Lr37* on breadmaking quality in wheat / M.T. Labuschagne, Z.A. Pretorius, B. Grobbelaar // Euphytica 124: 65–70, 2002.

351. Lagudah, E.S. Molecular genetic characterization of the *Lr34/Yr18* slow rusting resistance gene region in wheat / E.S. Lagudah, H. McFadden, R.P. Singh et al. // Theor. Appl. Genet. – 2006. – V 114. – P. 21–30.

352. Lagudah, E.S. Gene-specific markers for the wheat gene *Lr34/Yr18/Pm38* which confers resistance to multiple fungal pathogens / E.S. Lagudah, S.G. Krattinger, S. Herrera-Foessel et al. // Theor. Appl. Genet. – 2009. – V. 119. – P. 889–898.

353. Lapitan, N.L.V. Gill Wheat-rye translocation / N.L.V. Lapitan, R.G. Sears, A. L. Rayburn, B.S. Gill // J. Hered. -1986. 77: 415-419.

354. Lange, C. On prediction of genetic values in marker-assisted selection / C. Lange, J.C. Whittaker // Genetics. 2001;159(3):1375–1381. [PMC free article] [PubMed]

355. Larkin, P. J. Somaclonal variation - a novel source of variability from

cellcultures for plant improvement / P.J. Larkin, W. R. Scowcroft // Theor Appl Genet. 1981 Oct;60(4):197-214. doi: 10.1007/BF02342540.

356. Larson, R.I. Identity of the wheat chromosome replaced by *Agropyron* chromo-somes in a triple alien chromosome substitution line immune to wheat streak mosa-ic. / R.I. Larson, T.G. Atkinson // Can. J. Genet. Cytol. - 1970. - 12. - P.145-150.

357. Larson R.I., Atkinson T.G. Isolation of an *Agropyron elongatum* chromosome conferring resistance to the wheat curl mite on *Triticum-Agropyron* hybrid. / R.I. Larson, T.G. Atkinson // Can. J. Genet. Cytol. - 1972. - 14. - P.731-732.

358. Law, C.N. Worland AJ. Genetic analysis of some flowering time and adaptive traits in wheat / C.N. Law, A.J. Worland // New Phytol. - 1997. - V. 137. - P. 19-28.

359. Laurie, D.A. Wheat x maize hybridization. / D.A. Laurie, M.D. Bennett // Can. J. Genet. and Cytol. - 1986. - V. 28. - №2 - P. 65-66.

360. Lay, C. L. Immunity from wheat streak mosaic virus in irradiated *Agrotriticum* progenies. / C. L. Lay, D.G. Wels, W.A. Gardner // Crop. Si. - 1971. - 1.-P. 431-432.

361. Le, H.T. Detection of rye DNA in wheat-rye hybrids and wheat translocation stocks using total genomic DNA as a probe / H.T. Le, K.C. Armstrong, B. Miki // Plant Molecular Biology Reporter. 1989. 7: 150–158.

362. Le Gouis, J. How changes in climate and agricultural practices influenced wheat production in Western Europe. / J. Le Gouis, F. Oury, G. Charmet // J. Cereal Sci. 2020. 93, 102960.

363. Lehmensiek, A. Curation of wheat maps to improve map accuracy and QTL detection / A. Lehmensiek, P.J. Eckermann, A.P. Verbyla, R. Appels, M.W. Sutherland, G.E. Daggard // Aust. J. Agric. Res. 2005. 56, 1347–1354.

364. Lei, Z.S. Y-type gene specific markers for enhanced discrimination of high-molecular weight glutenin alleles at the *Glu-B1* locus in hexaploid wheat / Z.S. Lei, K.R. Gale, Z.H. He, C. Gianibelli, O. Larroque, X.C. Xia, B.J. Butow, W. Ma // J Cereal Sci. 2006. 43:94-101

365. Lein, A. Die genetische Grundlage der Kreuzbarkeit Zwischen Weizen und Roggen / A. Lein // Abstr. und Vererbungslehre, 1943. Bd.81. S.28-61.

366. Leitch, A.R. Genomic in situ hybridization to sectioned nuclei shows

chromosome domains in grass hybrids / A.R. Leitch, W. Mosgoller, T. Schwarzacher, M.D. Bennett, J.S. Heslop-Harrison // Journal of Cell Science. 1990. 95: 335–341

367. Leonova, I. Identification of microsatellite markers for a leaf rust resistance gene introgressed into common wheat from *Triticum timopheevii* / I. Leonova, A. Börner, E. Budashkina et al. // Plant Breed. – 2004. – V. 123. – P. 93–95.

368. Leonova, I.N. Microsatellite mapping of a leaf rust resistance gene transferred to common wheat from *Triticum timopheevii* / I.N. Leonova, E.B. Budashkina, K. Flath et al. // Cereal Research Commun. – 2010a. – V. 38. – P. 211–219.

369. Li, Z.S. Study of blue grained monosomic wheat. / Z. S. Li, S. M. Mu, H. P. Chou, B. Li // Proceedings of 9th Internat. Genet. Sympos. - 1993. - V.1. - P.119-124.

370. Li, A. Isolation of a gibberellin-insensitive dwarfing gene, Rht-B1e, and development of an allele-specific PCR marker / A. Li, W. Yang, X. Guo, D. Liu, J. Sun, A. Zhang // Molecular Breeding. — 2012. — V. 30. — P. 1443–1451.

371. Li, A. Novel Natural Allelic Variations at the Rht-1 Loci in Wheat / A. Li, W.Li, W. Yang, [et al.] // Journal of Integrative Plant Biology. 2013. 55(11)

372. Li, H. Introgression of the *Aegilops speltoides Su1-Ph1* suppressor into wheat / H. Li, K. Deal, M. Luo, W. Distelfeld, J. Dvorak // Front. Plant Sci., 8. 2017. p. 2163

373. Liang, D. Characterization of CIMMYT bread wheats for high- and low-molecular weight glutenin subunits and other quality-related genes with SDS-PAGE, RP-HPLC and molecular markers / D. Liang, J.W. Tang, R.J. Pena, R. Singh, X.Y. He, X.Y. Shen, D.N. Yao, X.C. Xia, Z.H. He // Euphytica. 2010. 172:235–250

374. Limello, M. A leucine to proline mutation in puroindoline b is frequently present in hard wheats from Northern Europe / M. Limello, C.F. Morris // Theor Appl Genet. 2000. 100:1100–1107

375. Lin, F. Mapping QTL associated with resistance to Fusarium head blight in the Nanda2419 × Wangshuibai population. I. Type II resistance / F. Lin, Z.X. Kong, H.L. Zhus, S.L. Xue, J.Z. Wu, D.G. Tian, Z.Q. Ma // Theor. Appl. Genet. 2004. 109(7), 1504–1511. doi: 10.1007/s00122-004-1772-z

376. Liu, S., & Anderson, J. A. Marker assisted evaluation of *Fusarium* head blight resistant wheat germplasm // Crop Sci., 43(3), 760–766. doi:10.2135/cropsci. 2003.7600

377. Liu, Z.H. A wheat intervarietal genetic linkage map based on microsatellite and target region amplyfied polymorphism markers and its utility for detecting quantitative trait loci / Z.H. Liu, J.A. Anderson, J. Hu et al. // Theor. Appl. Genet. – 2005. –V. 111.–P. 782–794.

378. Liu, S. New DNA markers for high molecular weight glutenin subunits in wheat / S. Liu, S. Chao, J.A. Anderson // Theor Appl Genet. 2008. DOI 10.1007/s00122-008-0886-0

379. Liu, Z. Molecular markers for leaf rust resistance gene *Lr42* in wheat / Z. Liu, R.L. Bowden, G. Bai // Crop Sci. – 2013. – V. 53. – P. 1566–1570.

380. Lowry, J.R. Identification and characterization of rye gen conditioning powdery mildew resistance in “Amigo” wheat / J.R. Lowry, D. J. Samson, P.S. Baenziger, J.G. Moseman // Crop Sci. 1984. 24: 129-132.

381. Lu, X.P. Diversity arrays technology (DArT) for studying the genetic polymorphism of flue-cured tobacco (*Nicotiana tabacum*) / X.P. Lu, B.G. Xiao, Y.P. Li, Y.J. Gui, Y. Wang, L.J. Fan // Journal of Zhejiang University SCIENCE B. 2013a. V. 14. No. 7. P. 570–577. doi: 10.1631/jzus.B1200227

382. Lukaszewski, A.J. Frequency of 1RS*1AL and 1RS*1BL translocations in US wheat / A. J. Lukaszewski // Crop Sci. 1990. 30: 1151-1153.

383. Lukaszewski, A.J. Screening large populations of wheat hybrids by C-banding / A.J. Lukaszewski, X. Xu // Cereal Research Communications. 1995. 23: 9–13.

384. Ma, H. Genetic control and chromosomal location of *Triticum timopheevii* derived resistance to septoria nodorum blotch in durum wheat / H. Ma, G.R. Hughes // Genome. – 1995. –V. 38. – P. 332–338.

385. Ma, W. Multiplex-PCR typing of high molecular weight glutenin alleles in wheat / W. Ma, W. Zhang, K.R. Gale // Euphytica. 2003. 134:51–60

386. Mac-caferri, M. Quantitative trait loci for grain yield and adaptation of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) across a wide range of water availability / M. Maccaferri, M.C. Sanguineti, S. Corneti et al. // Genetics. – 2008. – V. 178. – P. 489–511.

387. Mackill, D.J. Molecular mapping and marker-assisted selection for major-gene traits in rice / D.J. Mackill, J. Ni // InRice genetics IV 2001 (pp. 137-151).

388. Maes, E.E. Protein solubility and baking quality. / E.E. Maes // Cereal Sci. Today (Munneapolis). - 1966. - V. 11. - P. 200-202

389. Mago, R. Identification and mapping of molecular markers linked to rust resistance genes located on chromosome 1RS of rye using wheat-rye translocation lines / R. Mago, W. Spielmeyer, G.L. Lawrence, E.S. Lagudah, G.J. Ellis, // 2002.

390. Mago, R. High-resolution mapping and mutation analysis separate the rust resistance genes *Sr31*, *Lr26* and *Yr9* on the short arm of rye chromosome 1 / R. Mago, H. Miah, G.J. Lawrence, et al. // Theor. Appl. Genet. – 2005a. – V. 112. – P. 41–50.

391. Mago, R. Developmentof PCR markers for the selection of wheat stem rust resistance genes *Sr24* and *Sr26* in diverse wheat germplasm / R. Mago, H.S. Bariana, I.S. Dundas // Theor. Appl. Genet. – 2005b. – V. 111. – P. 496–504.

392. Mago, R. Development of wheat lines carrying stem rust resistance gene *Sr39* with reduced Aegilops speltoides chromatin and simple PCR markers for marker-assisted selection / R. Mago, P. Zhang, H. Bariana et al. // Theor. Appl. Genet. – 2009. – V. 119. – P. 1441–1450.

393. Mago, R. A multiple resistance locus on chromosome arm 3BS in wheat confers resistance to stem rust (*Sr2*), leaf rust (*Lr27*) and powdery mildew / R. Mago, L. Tabe, R.A. McIntosh [et. al.] // Theor Appl Genet. 2011. 123:615-623

394. Maningat, C.C. Update on wheat starch and its uses / C.C. Maningat, P.A. Seib // In: Proc. Int. Wheat Quality Conf. J.L. Steele, O.K. Chung (Eds.). Manhattan, KS.: Grain Industry Alliance, 1997;261-284.

395. Maningat, C.C. Wheat starch: Production, properties, modification, and uses / C.C. Maningat, P.A. Seib, S.D. Bassi, K.S. Woo et. al // In: Starch Chemistry and Technology. J. BeMiller, R. Whistler (Eds.). New York: Academic Press, 2009;441-510.

396. Mains, E.B. Fhysiologic specialization in leaf rust of wheat, *Puccinia triticiana* Erikss / E.B. Mains, H.S Jakson // Phytopatology. -№16. –P. 89-120.

397. Marais, F. Transfer of leaf rust and stripe rust resistance genes *Lr62* and *Yr42* from *Aegilops neglecta* Req. ex Bertol. to common wheat / F. Marais, A. Marais, B.D. McCallum, Z. Pretorius // Crop Sci. 2009. 49:871-879

398. Marais, G.F. Reduction of *Aegilops sharonensis* chromatin associated with

resistance genes *Lr56* and *Yr38* in wheat / G.F. Marais, P.E. Badenhorst, A. Eksteen, Z.A. Pretorius // Euphytica. 2010a. 171:15-22

399. Marais, G.F. Attempts to remove gametocidal genes co-transferred to wheat with rust resistance from *Aegilops speltoides* / G.F. Marais, T.A. Bekker, A. Eksteen, B. McCallum, T. Fetch, A.S. Marais // Euphytica. – 2010c. – V. 171. – P. 71–85.

400. Marais, G. F. Intergeneric transfer (rye to wheat) of a gene(s) for Russian wheat aphid resistance. / G. F. Marais, M. Horm, F. Du Toit // Plant Breeding. -1994. - 113. - P.265-271.

401. Mardi, M. QTL analysis of resistance to Fusarium head blight in wheat using a Frontana - derived population / M. Mardi, L. Pazouki, H. Delavar, M. Kazemi et al. // Plant Breeding. 2006. 125:313-317

402. Maris, G. F., H. S. Roux, Z.A. Pretorius & R. De V. Pienaar Resistance to leaf rust wheat derived from *Thinopyrum distichum* (Thumb.) / G. F. Maris, H. S. Roux, Z.A. Pretorius, R. De V. // In: T.E. Miller & R.M.D. Koebner (Eds). Proc. 7th. Wheat Genet. Symp. Cambridge, UK. Love. 1988. P. 369-367.

403. Maris, G.F. Preferential transmission in bread wheat of chromosome segment derved from *Thinopyrum distichum* (Thumb.) / G.F. Maris // Love. Plant Breeding. 1990. 104: 152-159.

404. Maris, G. F. Gamma Irradiation induced deletions in an alien chromosome segment of the wheat “Indis” and their use in gene mapping / G.F. Maris // Genome 1992. 35: 225-229.

405. Markova M. New horizons of genomic in situ hybridization / M. Markova, B. Vyskot // Cytogenet Genome Res. 2009. 126:368–375

406. Martin, J. N. Contributions of Leaf Rust Resistance and Awns to Agronomic and Grain Quality Performance in Winter Wheat / J. N. Martin, B.F. Carver, R.M. Hunger, T.S. Cox // Published in Crop Sci. 2003. 43:1712–1717

407. Martini, G. Partial inactivation of wheat nucleus organizers by the nucleus organizer chromosomes from *Aegilops umbellulata /* G. Martini, M. O’Dell, R. B. Flavell // Chromosoma. - 1982. - V.84. - P.687-700.

408. Mateos-Hernandez, M. Targeted mapping of ESTs linked to the adult plant

resistance gene *Lr46* in wheat using synteny with rice / M. Mateos-Hernandez, R.P. Singh, S.H. Hulbert et al. // Funct. Integr. Genomics. – 2006. – V. 6. – P. 122–131.

409. Matthews, D.E. GrainGenes, the genome database for small-grain crops / D.E. Matthews, V. Carollo, G. Lazo, O.D. Anderson // Nucleic Acids Res. 2003. 31, 183–186.

410. Maucher, T. Influence of low molecular weight glutenins on viscoelastic properties of intact wheat kernels and their relation to functional properties of wheat dough / T. Maucher, J.D. Figueroa, W. Reule, R. Pena // Cereal Chem. 2009. 86:372–375

411. McCallum, B.D. Physiologic specialization of *Puccinia triticina* in Canada in 2005 / B.D. McCallum, P. Seto-Goh // Can. J. Plant Path. 2008. V. 30. P. 124-132.

412. McCallum, B.D., Humphreys D.G., Somers D.J., Dakouri A., Cloutier S. Allelic variation for the rust resistance gene *Lr34/Yr18* in Canadian wheat cultivars / B.D. McCallum, D.G. Humphreys, D.J. Somers, A. Dakouri, S. Cloutier // Euphytica. 2012b. 183:261-274

413. McCartney, C.A. Microsatellite tagging of the leaf rust resistance gene *Lr16* on wheat chromosome 2BS / C.A. McCartney, D.J. Somers, B.D. McCallum, J.G. Thomas et. al. // Mol Breed. 2005.15:329-337

414. McCartney, C.A. The evaluation of FHB resistance QTL introgressed into elite Canadian spring wheat germplasm / C.A. McCartney, D.J. Somers, G. Fedak, R.M. DePauw et al. // Molecular Breeding/ 2007. 20:209-221

415. McIntosh, R.A. & N. H. Luig Recombination between genes of reaction to *P. graminis* at or near the *Sr9* locus // In: E. R. Sears & L.M. Sears (Eds). Proc. 4th Int. Wheat. Genet. Sump. Univ. of Missoure, Columbia, USA. 1973. P. 425-432

416. McIntosh, R.A. Inheritance of leaf rust and stem rust resistance in wheat cultivars Agent and Agata. / R.A. McIntosh, P.L. Dyck, G.J. Green // Austr. J. Agric Res. - 1977. - V. 28. - P. 37-45.

417. McIntosh, R.A. Genetic and cytogenetic studies involving *lr18* resistance to *Puccinia recondite* / McIntosh, R.A. // Proc. 6th. Int. Wheat Genet. Symp. Kyoto, Japan. 1983. P. 777-783.

418. McIntosh, R.A. Catalogue of gene symbols for wheat. 1991 supplement. / R. McIntosh, G. Hart, M. Gale // Cereal Res. Commun. - 1991.-V. 19.-N 4.-P. 491-506.

419. McIntosh, R.A. Cytogenetical studies in wheat XII. Chromosome Location of a gene for resistance to leaf rust in a Japanese wheat-rye translocation Lien / R.A. McIntosh, B. Friebe, J. Jiang, B.S. Gill // Euphytica 1995. 82: 141-147.

420. McIntosh, R.A. Wheat rust an atlas of resistance gene / R.A. McIntosh, C.R. Wellings & R.F. Park // CSIRO, Australia. 1995. P. 234-237.

421. McIntosh, R.A. Cytogenetical studies in wheat. XVI. Chromosome location of a new gene for resistance to leaf rust in a Japanese wheat-rye translocation line / R.A. McIntosh, B. Friebe, J. Jiang, B.S. Gill // Euphytica. – 1995b. – V. 82. – P. 141–147.

422. McIntosh, R.A. Catalogue of gene symbols for wheat / R.A. McIntosh, G.E. Hart, K.M. Devos, M.D. Gale, W.J. Rogers // Proceed 9th Intern Wheat Genet Symp, Saskatoon, Canada. 1998; 5:1–235.

423. McIntosh, R.A. Catalogue of Gene Symbols for Wheat / R.A. McIntosh., K.M. Devos, J. Dubcovsky, W.J. Rogers, C.F. Morris, R. Appels and O.D. Anderson //2005.

424. McIntosh, R.A., Devos K.M., Dubcovsky J. et al., Catalogue of gene symbols for wheat / R.A. McIntosh, K.M. Devos, J. Dubcovsky et al. // 2007; Available from supplement: http: www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/

425. McIntosh, R.A. Catalogue of Gene Symbols for Wheat / R.A. McIntosh., Y. Yamazaki, J. Dubcovsky, J. Rogers, [et al.] // 2012.

426. McIntosh, R.A. Catalogue of Gene Symbols for Wheat / R.A. McIntosh, Y. Yamazaki, J. Dubcovsky, J. Rogers, C. Morris, R. Appels, X.C. Xia. – 2013. Режим доступа: http: http: //www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/.

427. McIntosh, R.A. Catalogue of Gene Symbols for Wheat: 2015–2016 supplement / R.A. McIntosh, J. Dubcovsky, W.J. Rogers, C.F. Morris et al. // KOMUGI Integrated Wheat Science Database: http: //www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/.

428. McLauchlan, A. Development of robust PCR-based DNA markers for each homeoallele of granule-bond starch synthase and their application in wheat breeding programs / A. McLauchlan, F.C. Ogbonnaya, B. Hollingsworth // Aust. J. Agric. Res. 2001; 52: 1409–1416.

429. McMilian, D.E. Association of an isosim locus and strawbeaker foot rot resistance derived from *Aegilops ventricosa* in wheat / D.E. McMilian, R.E. Allan, D.E.

Roberts // Thoret. Appl. Genet. – 1986. – V. 72. - № 6. P. 743-747.

430. Mebrate, S.A. Mapping of the leaf rust resistance gene *Lr38* on wheat chromosome arm 6DL using SSR markers / S.A. Mebrate, E.C. Oerke, ·H.W. Dehne, K. Pillen // Euphytica. – 2008. – V. 162. – 457–466.

431. Meksem, K. A high-resolution map of the vicinity of the R1 locus on chromosome V of potato based on RFLP and AFLP markers / K. Meksem, D. Leister, J. Peleman // Mol. Genet. 1995. 249: 74-81.

432. Mello-Sampayo T. Genetic regulation of meiotic chromosome pairing by chromosome 3D of Triticum aestivum. Nature New Biol. 1971. 230, 22–23.

433. Mettin, D., W.- D. Bluthner & G. Schlegel Additional evidence of spontaneous 1B/1R wheat-rye substitutions and translocations / D. Mettin, W.- D. Bluthner, G. Schlegel // In: E. R. Sears & L.M. Sears (Eds). Proc. 4th Int. Wheat. Genet. Sump. Univ. of Missoure, Columbia, USA. 1973. P. 179-184.

434. Meuwissen, T. H. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps / T.H. Meuwissen, B.J. Hayes, M.E. Goddard // Genetics. 2001. V. 157. P. 1819–1829.

435. Meyers, B.C., Chin D.B., Shen K.A. The major resistance gene cluster in lettuce is highly duplicated and spans several megabases / B.C. Meyers, D.B. Chin, K.A. Shen // Plant Cell. 1998. 10: 1817-1832.

436. Miralles, D.J. Responses of leaf and tiller emergence and primordium initiation in wheat and barley to interchanged photoperiod / D.J. Miralles, R.A. Richards Responses // Annals of Botany. 2000. May 1; 85(5):655–63. https: doi.org/10.1006 anbo.2000.1121

437. Miller, T. E. Chromosome 3N of Aegilops uniaristata a sourse of tolerance to high levels of aluminium for wheat. / T. E. Miller, S. M. Reader, A. Mahmood, K. A. Purdie, I. P. King // Proceeding of the 9th Internat. Wheat Genetics Sympos. - 1993. - V.2. - P. 1037-1042.

438. Mohler, V. Singrün C. General considerations: marker-assisted selection / V. Mohler, C. Singrün // InMolecular marker systems in plant breeding and crop improvement 2004 (pp. 305-317) Springer, Berlin, Heidelberg.

439. Mohler, V. Characterization and mapping of *Lr65* in spelt wheat Altgold Rotkorn / V. Mohler, D. Singh, C. Singruë, R.F. Park // Plant Breed. – 2012. – V. 131. – P. 252–257

440. Morris C.F. Puroindolines: the molecular genetic basis of wheat grain hardness / C.F. Morris // Plant Mol Biol. 2002. 48:633–647

441. Morris, M. Money matters (II): costs of maize inbred line conversion schemes at CIMMYT using conventional and markerassisted selection / M. Morris, K. Dreher, J.M. Ribaut, M. Khairallah // Mol. Breed. 2003. 11, 235–247. (doi:10.1023/ A:1022872604743)

442. Morris, C.F. The distal portion of the short arm of wheat (*Triticum aestivum* L.) chromosome 5D controls endosperm vitreosity and grain hardness / C.F. Morris, B.S. Beecher // Theor Appl Genet. 2012. 125: 247-254.

443. Mujeeb-Kasi, A. The production, cytology, and practicallity of wide hybrids in the *Triticeae* / A. Mujeeb-Kasi, G. Kimber // Cereal Research Communication. - 1985. - V.13. - № 2-3. - P.111-124.

444. Mukade, K. The transfer of leaf rust resistance from rye to wheat by intergeneric addition and translocation / K. Mukade, M. Kamio & K. Hosoda // Gamma Field Sump. No.9. “Mutagenesis in Relation to ploidy level”. 1970. p. 69-87.

445. Mukai, Y. Simultaneous discrimination of the three genomes in hexaploid wheat by multicolor fluorescence in situ hybridization using total genomic and highly repeated DNA probes / Y. Mukai, Y. Nakahara, M. Yamamoto // Genome. 1993. 36: 489–494.

446. Murashige, T. Plant propagation through tissue culture / T. Murashige // Ann. Rev. Pl. Physiol., 1974. 25: 35-166.

447. Munkvold, J.D. Mapping quantitative trait loci for preharvest sprouting resistance in white wheat / J.D. Munkvold, J. Tanaka, D. Benscher, M.E. Sorrells // Theor Appl Genet. 2009. 119: 1223–1235.

448. Muterko, A.F. Molecular genetic mechanisms of regulation of growth habit in wheat / A.F. Muterko, I.A. Balashova, V.I. Fayt, Yu.M. Sivolap // Cytol Genet. 2015. 49(1):58–71

449. Naik, S. Identification of a STS marker linked to the *Aegilops speltoides* derived leaf rust resistance gene *Lr28* in wheat / S. Naik, K.S. Gill, R.V.S. Prakasa, V.S. Gupta, S. A. Tamhankar, S. Pujar, et al. //Theor. Appl. Genet. 1998. 97 535–540.

450. Nakamura, T. Identification of three *Wx* proteins in wheat (*Triticum aestivum* L.) / T. Nakamura, M. Yamamori, H. Hirano, S. Hidaka // Biochem. Genet. 1993a. 31:75–86

451. Nakamura, T. Decrease of waxy (*Wx*) protein in 2 common wheat cultivars with low amylose content / T. Nakamura, M. Yamamori, H. Hirano, S. Hidaka // Plant Breed. 1993b. 111:99– 105

452. Nakamura, T. Production of waxy (amylase-free) wheat / T. Nakamura, M. Yamamori, H. Hirano, S. Hidaka // Mol. Gen. Genet. 1995; 248: 253–259.

453. Nakamura, T. Rapid classification of partial waxy wheats using PCR-based markers / T. Nakamura, P. Vrinten, M. Saito, M. Konda // Genome. 2002. 45:1150-1156

454. Neelam, K. Development and validation of a breeder-friendly KASPar marker for wheat leaf rust resistance locus *Lr21* / K. Neelam, G. Brown-Guedira, L. Huang // Mol. Breed. – 2013. – V. 31. – P. 233–237.

455. Negrini, R. Differentiation of European cattle by AFLP fingerprinting / R. Negrini, I.J. Nijman // November 2006 Animal Genetics 38(1):60-66

456. Nelson, J.C. Mapping genes conferring and suppressing leaf rust resistance in wheat / J.C. Nelson, R.P. Singh, J.E. Autrique, M.E. Sorrells // Crop Sci. – 1997. – V. 37. – P. 1928–1935.

457. Nevo, E. Genetic resourses of wild Triticum diccoides for wheat improvement: news and views. / E. Nevo // Proceedings of the 9th Internat. Wheat Genetics Sympos. - 1993. - V.1. - P. 79-88.

458. Neu, C. Genetic mapping of the *Lr20–Pm1* resistance locus reveals suppressed recombination on chromosome arm 7AL in hexaploid wheat / C. Neu, N. Stein, B. Keller // Genome. – 2002. – V. 45. – P. 737–744.

459. Nishida, H. Structural variation in the 5′ upstream region of photoperiod-insensitive alleles PpdA1a and *Ppd-B1a* identified in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) and their effect on heading time / Nishida H., Yoshida T., Kawakami K., Fujita M., et al. // Molecular Breeding. 2013. 31, 27–37.

460. Nocente, F. Evaluation of Leaf rust resistance genes *Lr1, Lr9, Lr24, Lr47* and their introgression into common wheat cultivars by marker-assisted selection / F. Nocente, L. Gazza, M. Pasquini // Euphytica. 2007. 155. P. 329-336.

461. Nyquist, N.E. Differential fertilization in the inheritance of stem rust resistance of a common wheat strain derived from *Triticum timopheevii* / N.E. Nyquist //Agronomy Joernal 1962. 49: 222-223.

462. Obukhova, L.V. Composition of HMW Glutenin subunits in common wheat substitution lines from cultivars with contrasting bread making qualities / L.V. Obukhova, O.I. Maystrenko, G.V. Generalova, M.F. Ermakova, R.K. Popova // Russian J Plant Genet. 1997. 33:1005-1009

463. Oda, M. A method of flour quality assessment for Japanese noodles / M. Oda, Y. Yasuda, S. Okazaki, Y. Yamauchi, Y. Yokoyama // Cereal Chem. 1980; 57:253-259

464. Olivier, R. Identification of molecular markers for the detection of the yellow rust resistance gene *Yr17* in wheat / R. Olivier, C. Abelard, F. Dedryver // Mol. Breed. – 1999. – V. 5. – P. 167–175.

465. Olivera, P.D. Development of a genetic linkage map for Sharon goatgrass (*Aegilops sharonensis*) and mapping of a leaf rust resistance gene / P.D. Olivera, A. Kilian, P. Wenzl, B.J. Steffenson // Genome. 2013. V. 56. No. 7. P. 367–376.

466. Olson, M. A common language for physical mapping of the human genome/ M. Olson, L. Hood, C. Cantor, D. Botstein // Science, 1989, v. 245, pp. 1434-1435.

467. Ortelli, S. Leaf rust resistance gene *Lr9* and winter wheat yield reduction. I. Yield and yield components / S. Ortelli, H. Winzeler, P.M. Fried, J. Nösberger, M. Winzeler // Crop Sci. – 1996. – V. 36. – P. 1590–1595.

468. Qiu, J.W. Physical mapping and identification of a candidate for the leaf rust resistance gene *Lr1* of wheat / J.W. Qiu, A.C. Schürch, N. Yahiaoui et al. // Theor. Appl. Genet. – 2007. – V. 115. – P. 159–168.

469. Pardue, M.L. & Gall, J.G. Chromosomal localization of mouse satellite DNA / M.L. Pardue, J.G. Gall // Science – 1970. – V. 168. – P. 1356-1358.

470. Park, R.F. Characterization and mapping of gene *Lr73* conferring seedling resistance to *Pucciniia triticina* in common wheat / R.F. Park, V. Mohler, K. Nazari et al. // Draft manuscript – 2013.

471. Pasquini, M. Disease resistance in wheat. Behavior of *Aegilops speciese* with respect to *Puccinia recondite* f. sp. tritici, and Erusiphe gramines f. sp. Tritici / M. Pasquini // Genet. Agric. – 1980. – V. 34. – P. 133–148.

472. Pasquini, M. Pathogenicity of *Puccinia recondita* f.sp. tritici in Italy during. Annual wheat newsletter 44: items from Italy / M. Pasquini, F. Casulli, L. Sereni, F. Casini // – 1998. http:// grain.jouy.inra.fr/ggpages/awn/44/TextWles/ITALY.html.

473. Payne, P.I. Structural and genetical studies on the high-molecular-weight subunits of wheat glutenin / P.I. Payne, L.M. Holt, C.N. Law // Theor. Appl. Genet. – 1981. – V. 60. – P. 229–236.

474. Payne, P.I. Genetics of wheat storage proteins and the effect of allelic variation on bread-making quality / P.I. Payne // Plant Physiol. – 1987. – V. 38. P. 141–153.

475. Pestsova, E. Isolation and mapping of microsatellite markers specific for the D genome of bread wheat / E. Pestsova, M.W. Ganal, M.S. Röder // Genome. – 2000. – V. 43. – P. 689–697.

476. Pearce, S. Molecular Characterization of Rht1 Dwarfing Genes in Hexaploid Wheat / S. Pearce, R. Saville, S.P. Vaughan // Plant Physiology. — 2011. — V. 157. — P. 1820–1831.

477. Peng, J.R. “Green Revolution” Genes Encode Mutant Gibberellin Response Modulators / J.R. Peng, D.E. Richards, N.M. Hartley, G.P. Murphy, et al. // Nature. — 1999. — V. 400. — P. 256–261.

478. Peng, J.H. Characterization of EST-derived microsatellites in the wheat genome and development of eSSR markers / J.H. Peng, N.L.V. Lapitan // Funct. Integr. Genomics. – 2005. – V. 5. – P. 80–96.

479. Periyannan, S.K. A robust molecular marker for the detection of shortened introgressed segment carrying the stem rust resistance gene *Sr22* in common wheat / S.K. Periyannan, U.K. Bansal, H.S. Bariana et al. // Theor. Appl. Genet. – 2011. – V. 122. – P. 1–7.

480. Pershina, L.A. Plant chromosome engineering is an area of biotechnology / L.A. Pershina // Russ. J. Genet. Appl. Res. – 2014. – V. 4 (4). – P. 311-317. DOI 10.1134/ S207905971404008X.

481. Persival, J. The wheat plant / J. Pesival // A monograph. London: Duckworth and Co. – 1921. – 463 p.

482. Perugini, L.D. Pm37, a new broadly effective powdery mildew resistance gene from *Triticum timopheevii* / L.D. Perugini, J.P. Murphy, D.S. Marshall, G. Brown-Guedira // Theor. Appl. Genet. – 2008. – V. 116. – P. 417–425.

483. Petersen, G. Phylogenetic relationships of *Triticum* and *Aegilops* and evidence for the origin of the A, B, and D genomes of common wheat (*Triticum aestivum*) / G. Petersen O. Seberg, M. Yde, K. Berthelsen, // Mol. Phylogenet. Evol. 2006.39, 70–82.

484. Peto, F.H. Cytologial studies in the genus *Agropyron* / F.H. Peto // Canad. Jour. Res. – 1930. – V. 3. – P. 428–448.

485. Prabhu, K.V. Molecular markers detect redundancy and miss-identity in genetic stocks with alien leaf rust resistance genes *Lr32* and *Lr28* in bread wheat / K.V. Prabhu, S.K. Gupta, A. Charpe et al. // J Plant Biochem Biotech – 2003. – V. 12. – P. 123–129.

486. Prabhu, K.W. Marker assisted breeding in wheat: rust & biotic stresses / K.W. Prabhu, R. Tiwari // ICAR-ACIAR Planning Workshop 11-13 Oct. 2007 NASC, New Delhi 2007 (http:// acciar.gov.au/files/node/3871/Session%20IV-Prabhu%20Tiwari.pdf).

487. Prasad, M. QTL analysis for grain protein content using SSR markers and validation studies using NILs in bread wheat / M. Prasad, N. Kumar, P.L. Kulwal, M.S. Röder et al. // Theor Appl Gen. – 2003. – V. 106. – P. 659–667.

488. Prins, R. AFLP and STS tagging of *Lr19*, a gene conferring resistance to leaf rust in wheat / R. Prins, J.Z. Groenewald, G.F. Marais, J.W. Snape et al. // Theor. Appl. Genet. – 2001. – V. 103. – P. 618–624.

489. Procunier, J.D. PCR-based RAPD/DGGE markers linked to leaf rust resistance genes *Lr29* and *Lr25* in wheat (*Triticum aestivum* L.) / J.D. Procunier, T.F. Townley-Smith, S. Fox et al. // J. Genet. Breed. – 1995. – V. 49. – P. 87–92.

490. Pugsley, A.T. A genetic analysis of spring-winter habit of growth in wheat /

A.T. Pugsley // Aust J Agric Res. – 1971. – V. 22. – P. 21–31.

491. Qiu, J.W. Physical mapping and identification of a candidate for the leaf rust resistance gene *Lr1* of wheat / J.W. Qiu, A.C. Schürch, N. Yahiaoui et al. // Theor. Appl. Genet. – 2007. – V. 115. – P. 159–168.

492. Radovanovic, N, Cloutier S. Gene-assisted selection for high molecular weight glutenin subunits in wheat doubled haploid breeding programs / N. Radovanovic, S. Cloutier // Mol. Breed. – 2003. – V. 12 (1). – P. 51–59.

493. Ragupathy, R. Evolutionary origin of the segmental duplication encompassing the wheat GLU-B1 locus encoding the overexpressed Bx7 (Bx7OE) high molecular weight glutenin subunit / R. Ragupathy, H.A. Naeem, E Reimer, O.M. Lukow et al. // Theor. Appl. Genet. – 2008. – V. 116. – P. 283–296.

494. Raina, S.N. GISH technology in plant genome research / S.N. Raina, V. Rani // Methods in Cell Science – 2001. – V. 23 (1-3). – P. 83-104. DOI:10.1023/A:1013197705523

495. Rajaram, S. Adaption, stability and high yield potential of certain 1B/1R CIMMYT wheats / S. Rajaram, C. E. Mann, G. Ortis Ferrara, A. Mujeeb-Kazi // In: S. Sakamoto (Ed). Proc. 6th Int. Wheat Genet. Sump., Kyoto, Japan. – 1983. – P. 613-621.

496. Randhawa, M. Molecular mapping of stripe rust resistance gene *Yr51* in chromosome4AL of wheat / M. Randhawa, U.K. Bansal, M. Valári, B. Klocová et al. // Theor. Appl. Genet. – 2014. – V. 127. – P. 317–324.

497. Raupp, W.J. Cytogenetic and molecular mapping of the leaf rust resistance gene *Lr39* in wheat / W.J. Raupp, G.L. Brown-Guedira, B.S. Gill // Theor. Appl. Genet. – 2001. – V. 102. – P. 347–352.

498. Rayburn, A. L. Isolation of a D-genome specific repeated DNA sequence from *Aegilops squarrosa* / A. L. Rayburn, B. S. Gill // Plant Molecular Biology Reporter. – 1986. – V. 4 (2). – P. 102-109.

499. Rebetzke, G.J. Quantitative trait loci on chromosome 4B for coleoptile length and early vigour in wheat (*Triticum aestivum* L.) / G.J. Rebetzke, R Appels, A. Morrison, R.A. Richards et al. // Australian Journal of Agricultural Research – 2001. – V. 52. – P. 1221–1234.

500. Ren J., Sun D., Chen L., You F.M., Wang J., Peng Y., et al. Genetic diversity revealed by single nucleotide polymorphism markers in a worldwide germplasm collection of durum wheat / J. Ren, D. Sun, L. Chen, F.M. You, J. Wang, Y. Peng et al. // International journal of molecular sciences. 2013; 14: 7061–7088.

501. Riaz, A. Phenotyping adult plant resistance to leaf rust in wheat under accelerated growth conditions / A. Riaz // BGRI Technical Workshop. Sydney – 2015. www.mglobalrust.org

502. Ribaut, J.M. Marker-assisted selection: new tools and strategies / J.M. Ribaut, D. Hoisington // Trends Plant Sci. – 1998. – V. 3. – P. 236–239.

503. Riley, R. Genetic control of the citologically diploid behavior of hexaploid wheat / R. Riley, V. Chapman // Nature – 1958. – V. 182. – P. 713-715.

504. Riley, R. The D- genome of hexaploid wheat / R. Riley, V. Chapman // Wheat Inform. Serv. – 1960. – V. 11. – P. 18–21.

505. Riley, R. Kimber G. The Transfer of alien genetic variation to wheat / R. Riley, G. Kimber // Reports plant. Breed. Inst. Cambridge. – 1966. – P. 6-36.

506. Riley, R. The chromosomal distribution of the genetic resistance of rye yo wheat pathogens / R. Riley, R.C.F. Maser // Canad.J. Genet. Cytol. – 1966. – V. 8 (4). – P. 640-654.

507. Riley, R. The incorporation of alien disease resistance in wheat by genetic interference with the regulation of meiotic chromosome synapsis / R. Riley, V. Chapman, R. Johnson // Genet. Res. Cambridge. – 1968. – V. 12. – P. 199–219.

508. Riley, R. The effect of dosage of *Bg*- gene in wheat. / R. Riley, C. N. Law // Annual Reports. - Inst. Plant Science Research. John Innes Centre - Norwich. – 1971. – P.8–9.

509. Riley, R. The determination of meiotic chromosome pairing E.R. Sears, L.M.S. Sears (Eds.) / R. Riley, V. Chapman, T. Miller Proceedings of the 4th International Wheat Genetics Symposium, University of Missouri, Colombia, MO, USA 1973, pp. 731-738

510. Rimpau, W. Kreuzungsprodukte landwirtschaftlicher Kulturpflanzen. / W. Rimpau // Landwirtsh Jahrb. – 1891. – V. 20. – P. 335–371.

511. Röder, M.S. A microsatellite map of wheat / M.S. Röder, V. Korzun, K. Wendehake et al. // Genetics. – 1998. – V. 149. – P. 2007–2023.

512. Rodríguez-Quijano, M. Polymorphism of *waxy* proteins in Iberian hexaploid wheats / M. Rodríguez-Quijano, M.T. Nieto-Taladriz, J.M. Carrillo // Plant Breeding. – 1998. – V. 117. – P.341–344.

513. Rogowsky, P.M. Isolation and characterization of wheat-rye recombinants involving 1DS of wheat / P.M. Rogowsky, F.L.Y. Guidet, P. Langridge, K.W. Shepherd et al. // Theor. Appl. Genet. – 1991. – V. 82. – P. 537–554.

514. Rogowsky, P.M. Characterization of wheat-rye recombinants with RFLP and PCR probes / P.M. Rogowsky, M.E. Sorrels, K.W. Shepherd, P. Langridge // Theor. Appl. Genet. – 1993. – V. 85. – P. 1023–1028.

515. Rosen, L.A.H., Postprandial glycemia, insulinemia, and satiety responses in healthy subjects after whole grain rye bread made from different rye varieties 1 / L.A.H. Rosen, E.M. Östman, P.R. Shewry, J.L. Ward, et al. // J Agric Food Chem 2011. 59(22):12139–12148

516. Rostoks, N. Waugh R. Single-feature polymorphism discovery in the barley transcriptome / N. Rostoks, J.O. Borevitz, P.E. Hedley, J. Russell et al. // Genome Biol. – 2005. – V. 6. – 54 p.

517. Sachidanandam, R. A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms / R. Sachidanandam, D. Weissman, S.C. Schmidt, J.M. Kakol et al. // Nature. 2001. V. 409. P. 928–933.

518. Sadeghabad, A.A. Microsatellite markers for the *Triticum timopheevii*-derived leaf rust resistance gene *Lr18* on wheat 5BL chromosome / A.A. Sadeghabad, A. Dadkhodaie, B. Heidari, H. Razi et al. // Breed. Sci. – 2017. DOI:10.1270/jsbbs.16148.

519. Saito, M. Molecular comparison of *waxy* null alleles in common wheat and identification of a unique null allele / M. Saito, M. Konda, P. Vrinten, K. Nakamura et al. // Theo Appl Genet. – 2004. – V. 108. – P. 1205–1211.

520. Saito, M. A novel codominant marker for selection of the null *Wx-B1* allele in wheat breeding programs / M. Saito, P. Vrinten, G. Ishikawa, R. Graybosch et al. // Mol. Breed. – 2009. – V. 23. – P. 209–217.

521. Saliba-Colombani, V. Efficiency of RFLP, RAPD, and AFLP markers for the construction of an intraspecific map of the tomato genome / V. Saliba-Colombani, M. Causse, L. Gervais, J. Philouze // Genome. – 2000. – V. 43. – P. 29–40.

522. Salina, E. A comparative analysis of the composition and organization of two subtelomeric repeat families in Aegilops speltoides Tausch. and related species / E. Salina, I. Adonina, T. Vatolina, N. Kurata // Genetics. – 2004. – V. 122. – P. 227–237.

523. Salina, E.A. Phylogenetic reconstruction of Aegilops section Sitopsis and the evolution of tandem repeats in the diploids and derived wheat polyploids / E.A. Salina, K.Y. Lim, E.D. Badaeva, A.B. Shcherban et al. // Genome. – 2006. – Vol. 49. – No. 8. – P. 1023–1035.

524. Samsampour, D. Marker assisted selection to pyramid seedling resistance gene *Lr24* and adult plant resistance gene *Lr48* for leaf rust resistance in wheat / D. Samsampour, B. Maleki Zanjani, A. Singh et al. // Indian J. Genet. 2009. – V.69. P. 1–9.

525. SanCristobal, M. Genetic diversity in European pigs utilizing amplified fragment length polymorphism markers / M. SanCristobal, C. Chevalet, J. Peleman, H. Heuven // Animal Genetics – 2006. – V. 37 (3). – P. 232–238.

526. Scarth, R. The control of day-length response in wheat by the group 2 chromosomes. / R. Scarth, C.N. Law // Zeitschrift für Pflanzenzüchtung. – 1984. – V. 92 (2). – P. 140–150.

527. Schlegel, R. Current list of wheats with rye and alien introgression / R. Schlegel // – 2019. http://www.rye-gene-map.de/rye-introgression/ index.html.

528. Schachermayr, G.M. Identification and localization of molecular markers linked to the *Lr9* leaf rust resistance gene of wheat / G.M. Schachermayr, H. Siedler, M.D. Gale et al. // Theor. Appl. Genet. – 1994. – V. 88. – P. 110–115.

529. Schachermayr, G.M. Identification of molecular markers linked to the Agropyron elongatum-derived leaf rust resistance gene *Lr24* in wheat / G.M. Schachermayr, M.M. Messmer, C. Feuillet, H. Winzeler et al. // Theor. Appl. Genet. – 1995. – V. 90. – P. 982–990. DOI: 10.1007/BF00222911

530. Schachermayr, G. Molecular markers for the detection of wheat leaf resistance gene *Lr10* in diverse genetic backgrounds / G. Schachermayr, C. Feuillet, B. Keller //

Mol. Breed. – 1997. – V. 3. – P. 65–74.

531. Schneider, A. Fluorescence in situ hybridization polymorphism using two repetitive DNA clones in different cultivars of wheat / A. Schneider, G. Linc, M. Molnár-Láng, A. Graner // Plant Breeding. – 2003. – Vol. 122. – No. 5. – P. 396–400.

532. Schnurbusch, T. Dissection of quantitative and durable leaf rust resistance in Swiss winter wheat reveals a major resistance QTL in the *Lr34* chromosomal region / T. Schnurbusch, S. Paillard, A. Schori et al. // Theor. Appl. Genet. – 2004. – V. 108. – P. 477–484.

533. Schwarzacher, T. In situ localization of parental genomes in a wide hybrid / T. Schwarzacher, A. Leitch, M. Bennett, J. Heslop-Harrison // Annals of Botany. – 1989. –V. 64. – P. 315–324.

534. Seah, S. The introgressed segment carrying rust resistance genes *Yr17, Lr37* and *Sr38* in wheat can be assayed by a cloned disease resistance gene-like sequence / S. Seah, H. Bariana, J. Jahier, K. Sivasithamparum et al. // Theor. Appl. Genet. – 2001. – V 102. – P. 600–605.

535. Sears, E.R. The cytology and genetics of the wheats and their relatives / E.R. Sears // Advances in Genetics. – 1948. – V. 3 (b). – P. 239–270.

536. Sears, E.R. The transfer of leaf rust resistance from *Aegilops umbellulata* to wheat / E.R. Sears // Brookhaven Symp. Biol. – 1956. – V. 9. – P. 1–20.

537. Sears, E.R. Chromosome engineering in wheat / E.R. Sears // Stadler Symp. Univ. of Missoure, Columbia, USA. – 1972. – P. 23–28.

538. Sears, E.R. *Agropyron*-Wheat transfer induced by homoeologous pairing / E.R. Sears, L.M. Sears // Wheat. Genet. Sump. Univ. of Missoure, Columbia, USA. – 1973. – P. 191–199.

539. Sears, E.R. Analysis of wheat- *Agropyron* recombinant chromosome / Sears, E.R // Proc. 8th Eucarpia Congress, Madrid, Spain. – 1977. – P. 63–72.

540. Sears, R.G. Registration of Hamlet, a Hessian fly resistance hard red winter wheat germplasm / R.G. Sears, J.H. Hatchett, T.S. Cox, B.S. Gill // Crop. Sci. – 1992. – V. 32. – 506 p.

541. Sebesta, E.E. Wheat viruses and their genetic control / E.E. Sebesta, R.C.

Belingham // In: J. MacKey (Ed). Proc. 2nd Int. Wheat Genet. Symp. Heriditas Suppl. – 1963. V. 2. – P. 184–201.

542. Sebesta, E.E. Wheat *Streak mosaic* virus resistance / E.E. Sebesta, H.C. Young, E.A. Wood // Ann. Wheat. Newslet. – 1972. – V. 18. – 136 p.

543. Sebesta, E.E. Transfer of greenbug resistance from rye to wheat with X-rays / E.E. Sebesta, E.A. Wood // Agron. Abstr. – 1978. – P. 61–62.

544. Sebesta, E.E. Registration of Amigo wheat germplasm resistance to greenbug / E.E. Sebesta, E.A. Wood, D.R. Porter, J.A. Webster E.L. et al. Crop Sci – 1995. – V. 35. – 293 p.

545. Semagn, K. Distribution of DArT, AFLP and SSR markers in a genetic linkage map of a doubled-haploid hexaploid wheat population / K. Semagn, A. Bjørnstad, H. Skinnes et al. // Genome. – 2006. – V. 49. – P. 545–555.

546. Seyfarth, R. Development of a molecular marker for the adult plant leaf rust resistance gene *Lr35* in wheat / R. Seyfarth, C. Feuillet, G. Schachermayr, M. Winzeler, B. Keller // Theor. Appl. Genet. – 1999. – V. 99. – P. 554–560.

547. Seyfarth, R. Molecular mapping of the adult-plant leaf rust resistance gene *Lr13* in wheat (*Triticum aestivum* L.) / R. Seyfarth, C. Feuillet, G. Schachermayr, M. Messmer et al. // J. Genet. Breed. – 2000. – V. 54. – P. 193–198.

548. Shariflou, MR A PCR-based DNA marker for detection of mutant and normal alleles of the *Wx-D1* gene of wheat / M.R. Shariflou, M. Hassani, P.J. Sharp // Plant Breed. – 2004. – V. 120. – P. 121–124.

549. Sharma, H.C. Current status of wide hybridization in wheat / H.C. Sharma, B.C. Gill // Euphytica. – 1983. – V. 32 (1). – P. 17–31.

550. Shepherd, K.W. Wheat: barley hybrids - The first eighty years / K.W. Shepherd, A.K.M.R. Islam // In L.T. Evans, W.J. Peacock, eds. Wheat science -Today and tomorrow, Cambridge, UK, Cambridge University Press. – 1981. – P.107–128.

551. Shure, M. Molecular identification and isolation of the *Waxy* locus in maize / M. Shure, S. Wessler, N. Fedoroff // Cell. – 1983. – V. 35(1). – P. 225–233.

552. Si, H. A novel molecular marker for the polyphenol oxidase gene located on chromosome 2B in common wheat / H. Si, Z. Zhou, X. Wang, C. Ma // Mol Breed.–2012.

553. Si, H. Variability of polyphenol oxidase (*PPO*) alleles located on chromosomes 2A and2D can change the wheat kernel *PPO* activity / H. Si, C. Ma, X. Wang, X. He// Aus J Crop Sci. – 2012 b. – V. 6. – P. 444–449.

554. Singh, R.P. Pathogenicity variations of Puccinia recondita f. sp. tritici and *P. graminis* f. sp. *tritici* in wheat-growing areas of Mexico during 1988 and 1989 / R.P. Singh // Plant Disease. – 1991. – 75. – P. 790–794.

555. Singh, S. Pyramiding three bacterial blight resistance genes (*xa5, xa13 and Xa21*) using marker-assisted selection into indica rice cultivar PR106 / S. Singh, J.S. Sidhu, N. Huang // Theor. Appl. Genet. – 2001. – V. 102. – P. 1011–1015.

556. Singh, R.P. Genetics and breeding for durable resistance to leaf and stripe rusts of wheat / R.P. Singh, J. Huerta-Espino, M. Wiliam // Increasing Wheat Production in Central Asia through Science and Intern. cooperation: Proc. 1st Central Asian Wheat Conf. Almaty, Kazakhstan, Almaty. – 2003. – P. 127–132.

557. Singh, S. *Lr41, Lr39,* and a leaf rust resistance gene from Aegilops cylindrica may be allelic and are located on wheat chromosome 2DS / S. Singh, C.D. Franks, L. Huang et al. // Theor. Appl. Genet. – 2004a. – V. 108. – P. 586–591.

558. Singh, R. Marker-assisted selection for leaf rust resistance genes *Lr19* and *Lr24* in wheat (*Triticum aestivum* L.) / R. Singh, D. Datta, Priyamvada, S. Singh, R. Tiwari // J. Appl. Genet. – 2004b. – V. 45. – P. 399–403.

559. Singh, R. Allelic variations of functional markers for polyphenol oxidase (*PPO*) genes in Indian bread wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars / R. Singh, U. Goutam, R.K. Gupta, G.C. Pandey et al. // J Genet. – 2009a. – V. 88. – P. 325–329.

560. Singh, B. Inheritance and chromosome location of leaf rust resistance in durum wheat cultivar Wollaroi / B. Singh, U.K. Bansal, K.L. Forrest et al. // Euphytica. – 2010. – V. 175. – P. 351–355.

561. Singh, A. Identification of microsatellite markers linked to leaf rust adult plant resistance (APR) gene *Lr48* in wheat / A. Singh, J.K. Pallavi, P. Gupta, K.V. Prabhu// Plant Breed. – 2011. – V. 130. – P. 31–34.

562. Singh, A. Identification of microsatellite markers linked to leaf rust resistance gene *Lr25* in wheat / A. Singh, J.K. Pallavi, P. Gupta // National Phytotron Facility, Indian

Agricultural Research Institute, New Delhi, India // J. Appl. Genet. – 2012. – V. 53. – P. 19–25. DOI: 10.1007/s13353-011-0070-0

563. Singla, J. Characterization of *Lr75*: a partial, broad-spectrum leaf rust resistance gene in wheat / J. Singla, L. Lüthi, T. Wicker, U. Bansal et al. // Theor. Appl. Genet. – 2017. – V. 130. – P. 1–12. DOI: 10.1007/s00122-016-2784-1.

564. Sitch L.A. Intrachromosomal mapping of crossability genes in wheat (*Trificum aestivum*) / L.A. Sitch, J.W. Snape // Theor Appl Genet 70, 1985. 309-314

565. Sivasamy, M. Introgression of useful linked genes for resistance to stem rust, leaf rust and powdery mildew and their molecular validation in wheat (*Triticum aestivum* L.) / M. Sivasamy, Vinod, S. Tiwari // Indian J. Genet. – 2009. – V. 69. – P. 17–27.

566. Slikova, S. Development of wheat genotypes possessing a combination of leaf rust resistance genes *Lr19* and *Lr24* / S. Slikova, E. Gregová, P. Bartos, A. Hanzalová et al. // Plant soil and enviroment. – 2004. – V. 50 (10). – P. 434–438.

567. Smith, E. Registration of Agent wheat / E. Smith, A. Schlehuber, H. Young, L. Edwards // Crop. Sci. – 1968. – V. 8. – P. 511–512.

568. Smith, R.L. Identification of glutenin alleles in wheat and triticale using PCRgenerated DNA markers / R.L. Smith, M.E. Schweder, R.D. Barnett // Crop Sci. – 1994. – V. 34. – P. 1373–1378.

569. Snape, JW. Waiting for fine times: Genetics of flowering time in wheat / J.W. Snape, K. Butterworth, E. Whitechurch, A.J. Worland // Euphytica. – 2001. – V. 119. – P. 185–190.

570. Sorrells, M.E. Application of new knowledge, technologies, and strategies to wheat improvement / M.E. Sorrells // Euphytica. – 2007. – V. 157 (3). – P. 299–306.

571. Somers, D.J. Mining single-nucleotide polymorphisms from hexaploid wheat ESTs / D.J. Somers, R. Kirkpatrick, M. Maniwa, A. Walsh // Genome. – 2003. – V. 49. – P. 431–437.

572. Somers, D.J. A high-density microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.) / D.J. Somers, P. Isaac, K. Edwards // Theor. Appl. Genet. – 2004. – V. 109. – P. 1105–1114.

573. Spielmeyer, W. NBS-LRR sequence family is associated with leaf and stripe

rust resistance on the end of homoeologous chromosome group 1S of wheat / W. Spielmeyer, L. Huang, H. Bariana et al. // Theor. Appl. Genet. – 2000. – V. 101. – P. 1139–1144.

574. Springer, F. Untersuchungen uber die Beziehugen zwisehen kornertrag, klebergehalt und klebergute bei weizen. / F. Springer // Bayer. Landw Jb. Munchen. – 1964. – V. 41. – P. 131-154.

575. Srnic, G. Inheritance and chromosomal assignment of powdery mildew resistance genes in two winter wheat germplasm lines / G. Srnic, J.P. Murphy, J.H. Lyerly et al. // Crop Sci. – 2005. – V. 45. – P. 1578–1586.

576. Srinivasachary, N. Mapping of QTL associated with Fusarium head blight in spring wheat RL4137 / N. Srinivasachary, A. Gosman. Steed et al. // Czech. J. Genet. Plant Breed. – 2008. – V. 44. – P. 147–159.

577. Stelmakh, A.F. Genetic effects of Vrn genes on heading date and agronomic traits in bread wheat / A.F. Stelmakh // Euphytica. 1993. – V. 65. – P. 53–60.

578. Stelmakh A.F. Genetic Systems regulating flowering response in wheat / A.F. Stelmakh // Euphytica. – 1998. – 100. – P. 359–369.

579. Stuber, C.W. Synergy of empirical breeding, marker-assisted selection, and genomics to increase crop yield potential / C.W. Stuber, M. Polacco, M.L. Senior // Crop Sci. – 1999. – V. 39. – P. 1571–1583.

580. Sun, D.J. A novel STS marker for polyphenol oxidase activity in bread wheat / D.J. Sun, Z.H. He, X.C. Xia, L. Zhang et al. // Mol Breed. – 2005. – V. 16. – P. 209-218

581. Sun, Y.W. Alternative splicing in the coding region of *Ppo-A1* directly influences the polyphenol oxidase activity in common wheat (*Triticum aestivum* L.) / Y. Sun, Z.H. He, W.J. Ma, X.C. Xia // Funct Integr Genomics. – 2011. – V. 11. – P. 85–93

582. Sun, X. Molecular markers for wheat leaf rust resistance gene *Lr41* / X. Sun, G. Bai, B.F. Carver // Mol. Breed. – 2009. – V, 23. – P. 311–321.

583. Sun, X.C. Molecular mapping of wheat leaf rust resistance gene *Lr42* / X.C. Sun, G.H. Bai, B.F. Carver, R. Bowden // Crop Sci. – 2010. – V. 50. – P. 59–66.

584. Suenaga, K. Microsatellite markers for genes Lr34/Yr18 and other quantitative trait loci for leaf rust and stripe rust resistance in bread wheat/ K. Suenaga,

R. Singh, J. Huerta-Espino, H. William // Phytopathology. – 2003. – V. 93. P. 881–890.

585. Sydenham, S.L. Pyramiding wheat rust resistance genes using marker-assisted selection / S.L. Sydenham // Diss. University of the Free State. – 2007.

586. Syvanen, A. C. Toward genome-wide SNP genotyping / A.C. Syvanen // Nat. Genet. – 2005. – V. 37. – P. 5–10.

587. Tan, M.K. Genetics of late maturity a-amylase in a doubled haploid wheat population / M.K. Tan, A.P. Verbyla, B.R. Cullis, P. Martin, A.W. Milgate et al. // Crop & Pasture Science .2010. 61: 153–161.

588. Tanksley, S.D. RFLP mapping in plant breeding: new tools for an old science / S.D. Tanksley, N.D. Young, A.H. Patterson, M.W. Bonierbale // Nat. Biotechnol. 1989;.7:257–263.

589. Tancsley, S.D. Mapping polygenes. Annu. Rev. Genet. 1993. 27: 205-233.

590. Tanksley, S.D. Advanced backcross QTL analysis: a method for the simultaneous discovery and transfer of valuable QTLs from unadapted germplasm into elite breeding lines / S. Tanksley, J.C. Nelson // Theor. Appl. Genet. 1996. 92, 191–203.

591. Tar, M. Identification of molecular markers for an efficient leaf rust resistnce gene (*Lr29*) in wheat / M. Tar, L. Purnhauser, L. Csösz, A. Mesterházy, G. Gyulai // Acta Biologica Szegediensis 46. 2002. 133-134. http://www.sci.u-szeged.hu/ABS

592. Tar, M. Identification and localization of molecular markers linked to the Lr52 leaf rust resistance gene of wheat / M. Tar, L. Purnhauser, M. Csõsz // Cereal Research Commun. – 2008. – V. 36. – P. 409–415.

593. Terracciano, I. Development of COS-SNP and HRM markers for high throughput and reliable haplotype-based detection of Lr14a in durum wheat (*Triticum durum* Desf.) / I. Terracciano, M. Maccaferri, F. Bassi, P. Mantovani et al. // Theor. Appl. Genet. 2013. 126, 1077–1101. doi: 10.1007/s00122-012-2038-9

594. Tester, M. and Langridge, P. Breeding technologies to increase crop production in a changing world / M. Tester, P. Langridge // Science; 2010. 327, 818–822.

595. Thomas, J. Genetic markers and leaf rust resistance of the wheat gene *Lr32* / J. Thomas, S. Nilmalgoda, C. Hiebert et al. // Crop Sci. – 2010. – V. 50. – P. 2310– 2317.

596. Timonova, E.M. Marker-assisted development and characterization of a set of

Triticum aestivum lines carrying different introgressions from the *T. timopheevii* genome / E.M. Timonova, I.N. Leonova, M.S. Röder, E.A. Salina // Mol. Breed. – 2013. – V. 31. – P. 123–136.

597. Tomerlin, J.R. Resistance to Eryssiphe graminis f. *sp. tritici*, Puccinia recondita f. sp. tritici, and Septoria nodorum in wild Triticum species. / J.R. Tomerlin, M.A. El-Morhidy, J.G. Moseman, L. Baenzige, G. Kimber // Plant Disease. - 1984. V. 68. - P. 10-13.

598. Toyokawa, H. Japanese noodle qualities. 2. Starch components / H. Toyokawa, G.L. Rubenthaler, J. Powers, E. Schanus // Cereal Chem. 1989; 66:387- 391.

599. Tranquilli, G. Genetic and physical characterization of grain texture-related loci in diploid wheat / G. Tranquilli, D. Lijavetzky, G. Muzzi, J. Dubcovsky // Mol Gen Genet. 1999. 262: 846-850

600. Tsatsenco, L.V. Hybrids between wheat and genome-substituted form Avrodes. Cytogenetics and agronomy investigations / L.V. Tsatsenco, E.G. Zhirov, R.O. Davoyan // Cereal Res. Commun. 1993; 21(1):45-50.

601. Tsujimoto, H. Identification of individual barley chromosomes based on repetitive sequences: conservative distribution of Afa-family repetitive sequences on the chromosomes of barley and wheat / H. Tsujimoto, Y. Mukai, K. Akagawa [et al.,] // Genes Genet. Syst., 72 (5) (1997), pp. 303-309

602. Turner, M. The Ha locus of wheat: Identification of a polymorphic region for tracing grain hardness in crosses / M. Turner, Y. Mukai, P. Leroy, B. Charef, R. Appels, S. Rahman // Genome. 1999. 42:1242-1250

631. Turner, A. The pseudo-response regulator Ppd-H1 provides adaptation to photoperiod in barley / A. Turner, J. Beales, S. Faure, R.P. Dunford, D.A. Laurie // Science. - 2005. - V. 310. - № 50. - P. 1031-1034.

603. Tyrka, M. Development of the single nucleotide polymorphism markers of the wheat *Lr1* leaf rust resistance gene / M. Tyrka, L. Błaszczyk, J. Chełkowski et al. // Cell Mol. Biol. Lett. – 2004. – V. 9. – P. 879–889.

604. Upadhya, M.D.& Swaminathan, M.S. Genome analysis in *Triticum zhukovskyi*, a new hexaploid wheat.1963 // Chromosoma 14, 589–600.

605. Van Berloo, R. Resistance QTL confirmed through development of QTL–NILs for barley leaf rust resistance / R. Van Berloo, H. Aalbers, A. Werkman., R.E. Niks // Mol. Breed. 2001. 8. 187–195.

606. Van Campenhout, S. Locus-specific primers for *LMW* glutenin genes on each of the group 1 chromosomes of hexaploid wheat / S. Van Campenhout, J.V. Stappen, L. Sagi, G. Volckaert // Theor Appl Genet. 1995. 91:313–319

639. Vanzetti, L.S. Identification of microsatellites linked to *Lr47* / L.S. Vanzetti, J.C. Brevis, J. Dubcovsky, M. Helguera // Electronic J. Biotech. – 2006. – V.9. – P.267–271.

607. Vanzetti, L.S. Genetic variability for *waxy* genes in Argentinean bread wheat germplasm / L.S. Vanzetti, L.A. Pfluger, M. Rodríguez-Quijano, J.M. Carrillo, M. Helguera // Electron J Biotechnol. 2009. DOI: 10.2225/vol12-issue1-fulltext-2

608. Varshney, R.K. Genic microsatellite markers in plants: features and applications / R.K. Varshney, A. Graner, M. Sorrells // Trends Biotech. 2005. 23. 48–55.

609. Vasu, K. Microsatellite marker linked to a leaf rust resistance gene from *Triticum monococcum* L. transferred to bread wheat / K. Vasu, H. Singh, S. Singh, P. Chhuneja, H.S. Dhaliwal // J. Plant Biochem. Biotech. – 2001. – V. 10. – P. 127– 132.

610. Veraverbeke, W. S. and Delcour, J. A. Wheat protein composition and properties of wheat glutenin in relation to breadmaking functionality / W. S. Veraverbeke; J. A. Delcour // Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 42, 2002. 179–208.

611. Vida, G. Molecular markers for the identification of resistance genes and marker-assisted selection in breeding wheat for leaf rust resistance / G. Vida, M. Gal, A. Uhrin et al. // Euphytica. – 2009. – V. 170. – P. 67–76.

612. Vikal, Y. Tagging of an *Aegilops speltoides* derived leaf rust resistance genes *Lr28* with a microsatellite marker in wheat / Y. Vikal, P. Chhuneja, R. Singh, H.S. Dhaliwal // J Plant Biochem Biotech. 2004. 13:47– 49

613. Villareal, R.L. The effects of chromosome 1B/1R translocation on the yield potential of certain spring wheats / R.L. Villareal, A. Mujeeb-Kazi, S. Ragaram & E. Del-Toro // Plant Breeding 1991. 106:77-81.

614. Vishwakarma M.K. Introgression of the high grain protein gene *Gpc–B1* in an elite wheat variety of Indo–Gangetic plains through marker assisted backcross breeding

/ M.K. Vishwakarma, V.K. Mishra, P.K. Gupta, P.S. Yadav, H. Kumar, A.K. Joshi // Curr Plant Biol. – 2014. – V. 1. – P. 60–67.

615. Vlasenko, N.G. Vliyanie fitosanitarnykh sredstv na soderzhanie belka i kleikoviny v zerne sredneranikh i srednespelykh sortov yarovoi pshenitsy (Influence of phytosanitary products on protein and gluten content in grain of middle-early and mid-season varieties of spring wheat) / N.G. Vlasenko, A.A. Slobodchikov // Sibirskii vestnik sel'skokhozyaistvennoi nauki, 2010, No. 4, pp. 37-44.

616. Vos P., Hogers R., Bleeker M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting / P. Vos, R. Hogers, M. Bleeker // Nucl. Acids Res. 1995. 23: 4407-4414.

617. Wang, S. Genetic loci in the photoperiod pathway interactively modulate reproductive development of winter wheat / S. Wang, B. Carver, L. Yan // Theor Appl Genet. - 2009. - V. 118. - № 7. - P. 1339-1349.

618. Wang, X.B. Gene markers for grain polyphenol oxidase activity in common wheat / X.B. Wang, C.X. Ma, H.Q. Si, Y.Q. Qiao et al. // Mol Breed. 2009a. DOI 10.1007/s11032-008-9223-1

619. Wang, L.H. Characterization of low-molecular-weight glutenin subunit *Glu-B3* genes and development of STS markers in common wheat (*Triticum aestivum* L.) / L.H. Wang, X.L. Zhao, Z.H. He, W. Ma et al. // Theor Appl Genet. 2009b. 118:525–539

620. Wang, L.H. Development of STS markers and establishment of multiplex PCR for *Glu-A3* alleles in common wheat (*Triticum aestivum* L.) / L.H. Wang, G.Y. Li, R.J. Pena, X.C. Xia, Z.H. He // J Cereal Sci. 2010. 51:305–312

621. Wang, Y. Identification and molecular mapping of a leaf rust resistance gene in spelt wheat landrace Altgold / Y. Wang, H. Peng, G. Liu et al. // Euphytica. – 2010b. – V. 174. – P. 371–375.

622. Waninge, J.A. A modiffied of counting chromosomes on root tip cels of wheat. / J.A. Waninge // Euphitica. - 1965. - V.14. - № 3. - P. 249-256.

623. Ware, D. H. Gramene: a resource for comparative grass genomics / D. H. Ware // Nucleic Acids Res. 2002a. 30. 103–105.

624. Ware, D. H. Gramene, a tool for grass genomics / D. H. Ware // Plant Physiol. 2002b. 1606-1613.

625. 185. Wells, D.G. Registration of one disomic substitution lien and Five translocation liens of winter wheat germ plasm resistance to wheat streak mosaic virus / D.G. Wells, R.S. Kota, H.S. Sandhu, W.A.S. Gardner & K.F. Finney // Crop Sci. 1982. 22: 1277-1278.

626. Wellings, C.R. Pathogen dynamics associated with historic stripe (yellow) rust epidemics in Australia in 2002 and 2003 / C.R. Wellings, K.R. Kandel // In Proceedings of the 11th International Cereal Rusts and Powdery Mildews Conference. - 2004. – Mode of access: http://www.crpmb.org/icrpmc11/abstracts.htm.

627. Weng, Y. PCR-based markers for detection of different sources of 1AL.1RS and 1BL.1RS wheat–rye translocations in wheat background / Y. Weng, P. Azhaguvel, R.N. Devkota, J.C. Rudd // Plant Breed. – 2007. – V. 126. – P. 482 486.

628. Whelan, E.D.P. & O.M. Lukow The genetics and gliadin protein characteristics of wheat-alien translocation that confers resistance to colonization by the wheat curl mite // Genome 1990. 33: 400-404.

629. Wienhues, A. Transfer of rust resistance of *Agropyron* to wheat by addition, substitution and translocation / A. Wienhues // In: MacKey J (ed) Proceedings of the second International wheat genetic symposium, Lund, Sweden, Hereditas suppl Berlingska Boktryckeriet Lund, 19–24 August 1966, pp 328–341.

630. Wienhues, A. Translocations between wheat chromosomes and an *Agropyron* chromosome conditioning rust resistance / A. Wienhues // In: Sears ER, Sears LMS (eds) Proceedings of the fourth international wheat genetic symposium, Columbia, MO, University of Missouri, Columbia, 6–11 August. 1973, pp 201–207.

631. William, H.M. Wheat breeding assisted by markers: CIMMYT's experience / H.M. William, R. Trethowan, E.M. Crosby-Galvan // Euphytica. 2007;157(3):307–319. A.S. Wilkox, A.S. Khan, J.A. Hopkins, J.M. Sikela // Nucl. Acids Res., 1991, v. 19, pp. 1837-1843.

632. Wilson, A.S. On wheat and rye hybrids / A.S. Wilson // Trans. Proc. Bot. Soc., Edinburgh, 1876. 12: 286-288.

633. Witcombe, J. R. & Virk, D. S. Number of crosses and population size for participatory and classical plant breeding. Euphytica. 2001. 122, 451–462.

634. Wood, E.A. Jr., E.E. Sebesta & K. J. Stark Resistance of “Caucho” triticale to *Schizaphis graminum //* Environ. Entomol. 1974.3:720-721.

635. Worland, A.J. Gibberellic-acid insensitive dwarfing genes in southern European wheats / A.J. Worland // Euphytica. — 1986. — V. 35. — P. 857–866.

636. Worland, A.J. Location of a gene for resistance to eyesot (*Pseudocercosporella herpotrichoides*) on chromosome 7D of bread wheat. / A.J. Worland, C.N. Law, T.W. Hollins, R.M. D Kolbner, A. Gicra // Plant Breeding. - 1988. - V. 101. - N 1. - P. 43-51

637. Worland, A.G. Catalogue of monosomic series / A.G. Worland // Proc. 7th intern. Wheat Genet. Symp. Cambridge. 1988 V. 2. P. 1339-1403.

638. Worland, A.J. Rhtl (B. dw), an alternative allelic variant for breeding semi-dwarf wheat varieties / A.J. Worland, E.J. Sayers // Plant Breed. 1995. 114. P. 397-400.

639. Worland, A.J. The influence of flowering time genes on environmental adaptability in European wheats / A.J. Worland // Euphytica. - 1996. - V. 89. - P.49-57.

640. Worland, A.J. The influence of photoperiod genes on the adaptability of European winter wheats / A.J. Worland, A. Börner, V. Korzun, W.M. Li, S. Petrovic, E.J. Sayers // Euphytica. - 1998. - V. 100. - № 3. - P. 385-394.

641. Worland, A.J. The presence of the dwarfing gene *Rht8* in wheat varieties of the former Yugoslavian Republics as detected by a diagnostic molecular marker / A.J. Worland, V. Korzun, S. Petrovic // 2nd Balkan Symposium. On field Crops, Novi Sad. — 1998 (a). — V. 1. — P. 51–55.

642. Worland A.J. Genetic analysis of the dwarfing gene (*Rht8*) in wheat. Part II. The distribution and adaptive significance of allelic variants at Rht8 locus of wheat as revealed by microsatellite screening / A.J. Worland, V. Korzun, M.S. Roder, M.W. Ganal, C.N. Law // Theoretical and Applied Genetics. — 1998 (b). —V. 96. — P. 1110–1120.

643. Wrigley, C.W. Giant proteins with flour power / C.W. Wrigley // Nature. 1996. 381:738-739.

644. Wulff, B.B. Strategies for transferring resistance into wheat: from wide crosses to GM cassettes / B.B. Wulff, M.J. Moscou // Front. Plant. 2014. Sci. 5, https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00692

645. Xiao, Y.G. Molecular identification and distribution of the polyphenol oxidase genes in Chinese winter wheat cultivars / Y.G. Xiao, X.Y. He, J.J. Liu, D.J. Sun et al. // Sci Agric Sin. – 2008. – V. 41. – P. 954–960.

646. Xing, L.F. Molecular mapping of leaf rust resistance gen *LrFun* in Romanian wheat line Fundulea 900 / L.F. Xing, C.F. Wang, X.C. Xia, Z.H. He et al. // Mol. Breed. – 2014. – V. 33. – P. 931-937.

647. Xu, S.Z., Zhu D., Zhang Q.F. Predicting hybrid performance in rice using genomic best linear unbiased prediction / S.Z. Xu, D. Zhu, Q.F. Zhang // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. – 2014 – V. 111. – P. 12456-12461.

648. Yamamori, M. Waxy protein deficiency and chromosomal location of coding genes in common wheat / M. Yamamori, T. Nagamine, T. Nakamura, T.R. Endo // Theor. Appl. Genet. – 1994. – V. 89. – P. 179–184.

649. Yamamori, M. Polymorphism of two waxy proteins in the emmer group of tetraploid wheat, *Triticum* dicoccoides, *T. dicoccum*, and *T. durum* / M. Yamamori, T. Nakamura, T. Nagamine // Plant Breeding. – 1995. – V. 114. P. 215–218.

650. Yan, L. Allelic variation at the *VRN-1* promoter in polyploid wheat / L. Yan, M. Helguera, K. Kato, S. Fukuyama et al. // Theor Appl Genet. – 2004. – V. 109. – P. 1677–1686.

651. Yanagisawa, T. Detection of single nucleotide polymorphism (SNP) controlling the waxy character in wheat by using a derived cleaved amplified polymorphic sequence (dCAPS) marker / T. Yanagisawa, C. Kiribuchi-Otobe, H. Hirano, Y. Suzuki et al. // Theor. Appl. Genet. – 2003. – V. 107. – P. 84–88.

652. Yang, F.P. Distribution of photoperiod insensitive *Ppd-D1a* allele in chinese wheat cultivars / F.P. Yang, X.K. Zhang, X.C. Xia et al // Euphytica. — 2009. — 165. — P. 445—452.

653. Yang, S. Constans is a photoperiod regulated activator of flowering in sorghum / S. Yang, B.D. Weers, D.T. Morishige, J.E. Mullet // BMC Plant Biol. – 2014 – V. 14. – 148 p.

654. Zaharieva, M. Cultivated einkorn wheat (*Triticum monococcum* L. subsp. monococcum) / M. Zaharieva, P. Monneveux // The long life of a founder crop of

agriculture. Genet. Resour. 2014. Crop Evol. 61:677–706.

655. Zeng, M. Sources of variation for starch gelatinization, pasting, and gelation properties in wheat / M. Zeng, C.F. Morris, I.I. Batey, C.W. Wrigley // Cereal Chemistry. – 1997 – V. 74. – P. 63–71.

656. Zeven A.C. Crossability percentages of some 1400 bread wheat varieties and lines with rye. Euphytica 1987. 36, 299-319

657. Zhang, C (2011b) Allelic variants at the *TaZds-D1* locus on wheat chromosome 2DL and their association with yellow pigment content / Zhang, C, Dong CH, He X, Zhang L et al. // Crop Sci – 2011b – V. 51. – P. 1580–1590.

658. Zhang, F. Molecular characterization of lipoxygenase genes on chromosome 4BS in Chinese bread wheat (*Triticum aestivum* L.) / F. Zhang, F. Chen, P. Wu, N. Zhang et al. // Theor Appl Genet. – 2015. – V. 128. – P. 1467–1479.

659. Zhang, H.B. Characterization and distribution of an interspersed repeated nucleotide sequence from *Lophopyrum elongatum* and mapping of a segregatrion – distortion factor with it / H.B. Zhang, J. Dvorac // Genom – 1990. – V. 33. – P. 927-936.

660. Zhang, H. Molecular mapping of leaf rust resistance gene LrBi16 in Chinese wheat cultivar Bimai 16 / H. Zhang, X.C. Xia, Z.H. He, X. Li et al. // Mol. Breed. – 2011. – V. 28 – P. 527-534.

661. Zhang, J.X. Inheritance of leaf rust resistance in the CIMMYT wheat Weebill 1 / J.X. Zhang, R. Singh, J.A. Kolmer et al. // Crop Sci. – 2008. – V. 48. – P. 1037– 1047.

662. Zhang, N. Identification and molecular tagging of leaf rust resistance gene (*Lr24*) in wheat / N.Zhang, W.Yang, D.Liu//Agric Sci China–2011.–V.10.–P. 1898-1905.

663. Zhang, P. BAC-FISH in wheat identifies chromosome landmarks consisting of different types of transposable elements / P. Zhang, W. Li, J. Fellers, B. Friebe et al. // Chromosoma – 2004. – V. 112. P. 288–299.

664. Zhang, W. Identification of SNPs and development of allelespecific PCR markers for γ-gliadin alleles in *Triticum aestivum* / W. Zhang, M.C. Gianibelli, W. Ma, L. Rampling et al. Theor Appl Genet. – 2003. – V. 107. – P. 130–138.

665. Zhang, W. Characterisation and marker development for low molecular weight glutenin genes from *Glu-A3* alleles of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) /

W. Zhang, M.C. Gianibelli, L. Rampling, K.R. Gale // Theor. Appl. Genet. – 2004. – V. 108. – P. 1409–1419.

666. Zhang, W. Molecular characterization of durum and common wheat recombinant lines carrying leaf rust resistance (*Lr19*) and yellow pigment (*Y*) genes from Lophopyrum ponticum / W. Zhang, A.J. Lukaszewski, J. Kolmer et al. // Theor. Appl. Genet. – 2005a. – V. 111. – P. 573–582.

667. Zhang, Z. Accuracy of whole-genome prediction using a genetic architecture-enhanced variance-covariance matrix *G3*-Genes / Z. Zhang, M. Erbe, J. He, U. Ober et al. // Genomes Genet. – 2015 – V. 5. – P. 615–627.

668. Zhao, X.L. Characterization of three low-molecular-weight *Glu-D3* subunit genes in common wheat / X.L. Zhao, X.C. Xia, Z.H. He, K.R. Gale et al. // Theor. Appl. Genet. – 2006. – V. 113. – P. 1247-1259.

669. Zhao, X.L. Novel DNA variations to characterize low molecular weight glutenin *Glu-D3* genes and develop STS markers in common wheat / X.L. Zhao, X.C. Xia, Z.H. He, Z.S. Lei et al. // Theor. Appl. Genet. – 2007a. – V. 114. – P. 451–460.

670. Zhao, X.L. Identification of SNPs and development of functional markers for *LMW-GS* genes at *Glu-D3* and *GluB3* loci in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) / X.L. Zhao, W. Ma, K.R. Gale, Z.S. Lei et al. // Mol Breed. – 2007b. – P. 223-231.

671. Zhao, X.L. Molecular mapping of leaf rust resistance gene *LrZH84* in Chinese wheat line Zhou 8425B / X.L. Zhao, T.C. Zheng, X.C. Xia et al. // Theor. Appl. Genet. – 2008. – V. 117. – P. 1069–1075.

672. Zhemchuzina, A. Structure of population of *Puccinia triticina* in various regions of Russia in 2006–2008 / A. Zhemchuzina, N. Kurkova // Abstr. of 8th Intern. Wheat Conf. 1–4 June 2010. St. Petersburg, Russia. – 2010. – 279 p.

673. Zhou, H.X. Molecular mapping of leaf rust resistance gene *LrNJ97* in Chinese wheat line Neijiang 977671 / H.X. Zhou, X.C. Xia, Y.H. He, X. Li et al. // Theor. Appl. Genet. – 2013. – V. 126. – P. 2141-2147.

674. Zitelii, G. Role of related species in genetic improvement of cultivated wheats/ G. Zitelii G // Proc. 5th Europ. And mediter. Cerial Rusts Conf. Bari and Rome. – 1980. – P. 95-103.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Приложение: таблица 1. Молекулярные маркеры сцепленные с генами устойчивости к листовой ржавчине. Происхождение, тип гена, хромосомная локализация, название маркера и расстояние до маркера.

Название *Lr*-гена	Сцеплен с другими генами	Происхождение/ транслокация	Тип	Тип маркера	Хромосомная локализация	Название маркера Фланкирующие маркеры	Генетическая дистанция/сцеп ле-ние, сМ	Литературный источник
Lr1		*T. aestivum*	ювенильный	нет данных	5DL	*Lr1*	нет данных	Feuillet et al., 1995
				SNP		Lr1-98F	аллель-спецефичный	Turka et al., 2004
				CAPS (RGA)		WR003	0,02cM	Qiu et al., 2007
				нет данных		Xgwm272	11,2cM	Roder et al.,1998
				нет данных		Xgwm654	6,1cM	нет данных
				нет данных		GA567-5	0cM	Cloutier et al., 2007
Lr2a		*T. aestivum*	ювенильный	нет данных	2DS	нет данных	нет данных	нет данных
Lr2b		*T. aestivum*	ювенильный	нет данных	2DS	нет данных	нет данных	нет данных
Lr2c		*T. aestivum*	ювенильный	нет данных	2DS	нет данных	нет данных	нет данных
Lr3a	*Sr11*	*T. aestivum*	ювенильный	STS, AFLP	6BL	$UBC840_{540}$	6cM	Khan et al., 2005
						STSMWG798; P33/M48352; P81/M66165	Косегрегирует 2,3 cM; 3,2 cM	Herrera-Foessel et. al., 2007
Lr3bg		*T. aestivum*	ювенильный	нет данных	6BL			
Lr3ka		*T. aestivum*	ювенильный	нет данных	6BL			
Lr9		*Ae. umbellulata*	ювенильный	STS	6BL	J13	8cM	Schachermayr et al., 1994
				SCAR		$SCS5_{550}$	0,8 cM	Gupta et al., 2005
				нет данных		LR9-Res-2	нет данных	Vida et al., 2009
				RAPD		S2191500	0,9 cM	Gupta et al., 2005

Продолжении таблицы 1

Название *Lr*-гена	Сцеплен с другими генами	Происхождение/ транслокация	Тип	Тип маркера	Хромосомная локализация	Название маркера Фланкирующие маркеры	Генетическая дистанция/сцеп ле-ние, сМ	Литературный источник
Lr10		*T. aestivum*	ювенильный	STS	1AS	Lrk10	Косегрегирует	Schachermayr 1997
				RFLP		Xcdo426	5,1 сМ	Nelson et al., 1997
				нет данных		Xgwm33	5сМ	Roder et al.,1998
Lr11		*T. aestivum*	ювенильный	нет данных	2A	нет данных	нет данных	нет данных
Lr12		*T. aestivum*	возрастной	SSR	4BS	Xgwm149	1,9	Roder et al.,1998
						Xgdm251	0,9	
Lr13	*Lr23*	*T. aestivum*	возрастной	SSR	2BS	GWM630	10,3сМ	Seyfarth et al., 2000
						Xwmc474	нет данных	Cakir et al., 2008
				SSR		Xksm58	5,1сМ	Bansal et al., 2008
						Xstm	8,7сМ	
Lr14a	*Sr17, Pm5*	*T. turgidum*	ювенильный	SSR, AFLP	7BL	Xwmc273; Xgwm344; P87/M67151	14,0 сМ; 1,0 сМ; 0,0 сМ	Herrera-Foessel et al., 2008a
				нет данных		gwm146	4сМ	Mac-caferri et al. 2008
				нет данных		gwm344	4,5сМ	
				нет данных		ubw14	2,1сМ	Terracciano et al., 2013
				нет данных		wPt-4038-HRM	0,1сМ	
Lr14b		*T. aestivum*	ювенильный	нет данных	7BL	нет данных	нет данных	нет данных
Lr15	*Lr2, Sr6*	*T. aestivum*	ювенильный	SSR	2DS	Xgwm4562; Xgwm102	3,1 сМ, 9,3 сМ	Gupta et. al., 2008; Dholakia et. al., 2013
Lr16	*Sr23*	*T. aestivum*	ювенильный	SSR	2BS	wmc764; Xgwm614	10 сМ; 9 сМ	McCartney et al. (2005)

Продолжение таблицы 1

Название *Lr*-гена	Сцеплен с другими генами	Происхождение/ транслокация	Тип	Тип маркера	Хромосомная локализация	Название маркера Фланкирующие маркеры	Генетическая дистанция/сцеп ле-ние, сМ	Литературный источник
Lr17a	*Sr38*	*T. aestivum*	ювенильный	SSR	2AS	gwm614	0,7cM	Bremenkamp-Barrett et al., (2008)
						wmc407	2,5cM	
						gwm636	4,0 cM	Zhang et al. (2008)
Lr17	*Sr38*	*T. aestivum*	ювенильный	нет данных	2AS	нет данных		
Lr18		*T. timopheevii*	ювенильный	SSR	5BL	gpw7425	0,3cM	Sadeghabad et al., 2017
						wmc75	1,2cM	
Lr19	*Sr25*	*Thinopyrum ponticum*	ювенильный	STS	7DL	Gb	внутригенный, косегрегирует	Prins, 2001
				SSR; STS-EST		Xgwm37; BF145935	6,3 cM; 11,6cM	Ayala-Navarete et al., 2007
				SCAR		SCS265; $SCS253_{736-}$	2,9 cM; 0,0 cM	Gupta et al. (2006a)
Lr20	*Sr15, Sr22, Pm1*	*T. aestivum*	ювенильный	RFLP, STS		Xcdo 347, Xpsr 121, Xpsr 680, Xpsr 687, Xrgc 607, Xsts 683	косегрегирует	Neu et al., 2002
				STS	7AL	STS638	7,1 cM	Khan et al., 2005
Lr21 (=Lr40)		*Ae. taushii*		STS	1DL	D14	0,2 cM	Huang and Gill, 2001
			ювенильный			Lr21F/R	нет данных	maswheat.ucdavis.edu/protocols/lr21/index.htm
				RGA, SSR		rgaYr10; Xgdm33	0,0 cM; 0,6 cM	Spielmeyer et al., 2000
Lr22a		*Ae. taushii*	возрастной	SSR	2DS	Xgwm296	2,9cM	Hiebert et al., 2007
Lr22b		*T. aestivum*	возрастной	нет данных	2DS	нет данных		

Продолжение таблицы 1

Название *Lr*-гена	Сцеплен с другими генами	Происхождение/ транслокация	Тип	Тип маркера	Хромосомная локализация	Название маркера Фланкирующие маркеры	Генетическая дистанция/сцеп ле-ние, сМ	Литературный источник
Lr23	*Lr13, Sr9*	*T. turgidum*	ювенильный	RFLP	2BS	Xmwg950-Xtam72		Faris et al., 1999
Lr24	*Sr24*	*Thinopyrum ponticum*		STS	3DL	J09		Schachermayr 1994
				нет данных		SC-H5	нет данных	Dedryver, 1996
				нет данных		Sr24#50	нет данных	Mago, 2005b
				нет данных		Sr24#12	нет данных	
				нет данных		barc71	нет данных	
				SCAR		SCS73 719	6,4 сМ	Cherukuri, 2003
				нет данных		ASTS212	нет данных	Zhang et al. (2011)
Lr25	*Pm7*	*S. cereale*	ювенильный	RAPD, SCAR	4BS	Lr25F20	косегрегирует	Procunier et al., 1995
				SSR		Xgwm251	3,8сМ	Singh et al., 2012
						Xgwm538	3,8сМ	
						Xgwm6	12,4сМ	
Lr26	*Sr31,Yr9 , Pm8*	*S. cereale*	ювенильный	SCAR	1BL	iag95	1,7сМ	Mago et al., 2002
				нет данных		P6M12	нет данных	Mago et al., 2005
				нет данных		SCM9	нет данных	Weng et al., 2007
				нет данных		ω-secalin F	нет данных	Chai et al. 2006
Lr27	*Lr31*	*T. aestivum*	ювенильный	нет данных	3BS	DOX_1 / RKO_1	интервал 0,07 сМ	Mago et al. (2011)

Продолжение таблицы 1

Название *Lr*-гена	Сцеплен с другими генами	Происхождение/ транслокация	Тип	Тип маркера	Хромосомная локализация	Название маркера Фланкирующие маркеры	Генетическая дистанция/сцепле-ние, сМ	Литературный источник
Lr28		*Ae. speltoides*	ювенильный	SSR	4AL	Gwm160	нет данных	Vikal et al., 2004
				SCAR		$SCAR421_{625}$	нет данных	Prabhu et al., 2003
				SCAR		$SCAR421_{570}$	15,3cM	Cherukuri et al., 2005
				SSR		Wmc313	5 cM	Bipinraj et al., 2011
Lr29		*Th. ponticum*	ювенильный	SCAR	7DS	UBC2191000	нет данных	Procunier et al. 1995
						Lr29F18/R18		
						Lr29F24/R24		
				нет данных		OPY10		Tar et al. 2002
Lr30		*T. aestivum*	ювенильный	нет данных	4BL	нет данных	нет данных	нет данных
Lr31 (=Lr12)	*Lr27*	*T. aestivum*	возрастной	нет данных	4BS	нет данных	нет данных	нет данных
Lr32		*Ae. taushii*	ювенильный	SSR	3DS	wmc43 Xwmc43; Xbarc 128 barc135	0,6cM 0,6cM; 6,9 cM 0,6cM	Thomas et al. (2010)
				RFLP		Xbsd 1278; Xcdo395	3,6 cM; 6,9 cM	Autrique et al., 1995
Lr33		*T. aestivum*	ювенильный	нет данных	1BL	нет данных		
Lr34	*Yr18, Pm38*	*T. aestivum*	возрастной	STS, RFLP, wEST	7DL	csLV34	0,4 cM	Lagudah et al., 2006
				SSR		Xgwm295	картирован как QTL	Suenaga et al., 2003
				нет данных		Xgwm130, Xbark35	нет данных	Schnurbusch et al., 2004
				FM (SNP)		cssfr5, cssfr6	Аллель-специфичный	Lagudah et al. (2009)
				нет данных		caIND11, caISBP1	внутригенный	Dakouri et al. (2010); McCallum et al. (2012b)

Продолжение таблицы 1

Название *Lr*-гена	Сцеплен с другими генами	Происхождение/ транслокация	Тип	Тип маркера	Хромосомная локализация	Название маркера Фланкирующие маркеры	Генетическая дистанция/сцеп ле-ние, сМ	Литературный источник
Lr35		*Ae. speltoides*	ювенильный	SCAR	2B	SCAR-Sr39F2	косегрегируют	Gold et al., 1999
				RFLP; CAPS; STS		Xwg 996; Xpsr 540; Xbcd 260;	косегрегируют	Seyfart et al., 1999
				нет данных		Sr39 # 22r	нет данных	Mago et al., 2009
				нет данных		Sr39 # 50s	нет данных	
				нет данных		BE500705	нет данных	
Lr36		*Ae. speltoides*	ювенильный	нет данных	6BS	нет данных		
Lr37	*Yr17, Sr38*	*Ae. ventricosa*	ювенильный	RFLP; CAPS	2AS	Ventriup-LN2 URIC-LN2	косегрегирует	Helguera et al., 2003
				RFLP; SCAR для гена *Yr17*		Xpsr 150-2Mv; SC-Y15	косегрегирует; 0,8 сМ	Olivier et al., 1999
				RGA		Cs Vrgal 13cs	косегрегирует	Seah et al., 2001
Lr38		*Ag. intermedium*	ювенильный	SSR	2AL	Xwms773	6,1 сМ	Mebrate, 2008
						Xbarc273	7,9 сМ	
						Xcfd5	22,1 сМ	
						Xcfd60	нет данных	
Lr39(= Lr41)		*Ae. taushii*	ювенильный	SSR	2DS	Sr39 # 22r	нет данных	Raupp et al., 2001; maswheat.ucdavis.edu/protocols/lr39/index.htm
						GDM35	1,9 сМ	
				SSR		Xbarc124	1 сМ	Sun et al., 2009
				SSR		GWM210	10,7 сМ	Singh et al., 2004a
Lr42		*Ae. taushii*	ювенильный	SSR	1DS	Xwmc432	0,8 сМ	Sun et al., 2010
						Xgdm 33	17 сМ	Liu et al., 2013

Продолжение таблицы 1

Название *Lr*-гена	Сцеплен с другими генами	Происхождение/ транслокация	Тип	Тип маркера	Хромосомная локализация	Название маркера Фланкирующие маркеры	Генетическая дистанция/сцеп ле-ние, сМ	Литературный источник
Lr44		*T. spelta*	ювенильный	нет данных	1BL	нет данных	нет данных	нет данных
Lr45		*S. cereale*	ювенильный	нет данных	2AS	нет данных	нет данных	нет данных
Lr46	*Yr29, Pm39*	*T. aestivum*	возрастной	SSR	1BL	Xwmc44	нет данных	maswheat.ucdavis.edu/protocols/lr46/index.htm
				EST-STS		XSTS1BL2	2,2cM	Mateos-Hernandez et al., 2006
						xsts1bl9	0 cM	
						XSTS1BL17	2,2cM	
				SSR		Xgwm130	2,5cM	Roder et al.,1998
Lr47		*Ae. speltoides*	ювенильный	CAPS	7AS	PS10	косегрегирует	Helguera et al., 2000
				SSR		Xgwm 60	нет данных	Vanzetti et al., 2006
Lr48		*T. aestivum*	возрастной	SSR	2BS	gwm429	6,1 cM	Bansal et al., 2008
						barc7	7,3 cM	
					2BL	Xwmc332	2,5 cM	Singh et al., 2011
						Xwmc627	12,6 cM	
						Xwmc175	10,3 cM	
						Xwmc149	20,7 cM	
				RAPD		S 336775; S3450	2,7 cM; 8,6 cM	Samsampour et al., 2009
Lr49		*T. aestivum*	возрастной	SSR	2AS	Xbarc163	8,1 cM	Bansal et al., 2008
						Xwmc349	10,1 cM	
Lr50		*T. timopheevii*	возрастной	SSR	2BL	Xgwm382	6,7 cM,	Brown-Guedira et al., 2003 (maswheat.ucdavis.edu/protocols/lr50/)
						Xgdm87	9,4 cM	

Продолжение таблицы 1

Название *Lr*-гена	Сцеплен с другими генами	Происхождение/ транслокация	Тип	Тип маркера	Хромосомная локализация	Название маркера Фланкирующие маркеры	Генетическая дистанция/сцепле-ние, сМ	Литературный источник
Lr51		*Ae. speltoides*	ювенильный	CAPS	1BL	S30-13L/AGA7-759R	косегрегируют	Helguera et al. (2005)
						GLA-09		
Lr52= LrW1		*T. aestivum*	ювенильный	SSR	5BS	Gwm 443	16,5 cM	Hiebert et al., 2005
				SSR, STS		wmc149	1,3 cM	Tar et al. (2008)
						gwm234	7,2 cM	
						Xtxw200	3,6 cM	
				SSR		gwm234	10,2 cM	Bansal et al. (2011)
						cfb309	12,9 cM	
Lr53		*T. dicoccoides*	ювенильный	SSR	6BS	cfd1	1,1 cM	Dadkhodaie et al. (2011)
						gwm508	4,5 cM	
Lr54		*A. kotschyi*	ювенильный	нет данных	2DL	нет данных	нет данных	нет данных
Lr55		*Elymus trachycaulis*	ювенильный	нет данных	1B	нет данных	нет данных	нет данных
Lr56		*Ae. sharonensis*	ювенильный	SSR	6AL	gwm427	нет данных	Marais et al., 2010a
Lr57	*Yr40*	*Ae. geniculate*	ювенильный	RFLP	5DS	Xfbb 276; Xbcd 873; Xcdo 959	косегрегируют	Kuraparthy et al., 2007a
				CAPS		Xlr57/Yr40-MAS-CAPS 16	косегрегируют	Kuraparthy et al., 2009
Lr58		*Ae. triuncialis*	ювенильный	RFLP, SSR	2BL	XksuH16 XksuF11 Xbg123 cfd50	косегрегируют	Kuraparthy et al., 2007b
				STS		Xncw-Lr58-1	косегрегирует	Kuraparthy et al., 2011

Продолжение таблицы 1

Название *Lr*-гена	Сцеплен с другими генами	Происхождение/ транслокация	Тип	Тип маркера	Хромосомная локализация	Название маркера Фланкирующие маркеры	Генетическая дистанция/сцеп ле-ние, сМ	Литературный источник
Lr59		*Ae. peregrina*	ювенильный	нет данных	1AL	нет данных	нет данных	нет данных
Lr60= LrW2		*T. aestivum*	ювенильный	SSR	1DS	barc149	8,4 cM	Hiebert et al., 2008
Lr61		*T. turgidum*	ювенильный	AFLP	6BS	P81/M70269	2,2 cM	Herrera-Foessel et al., 2008b
						P87/M75$_{131}$	2,2 cM	
Lr62	*Yr42*	*Ae. neglecta*	ювенильный	нет данных	6A	нет данных	нет данных	Marais et al. (2009)
Lr63		*T. monococcum*	ювенильный	SSR	3AS	barc57, barc321	2,9 cM	Kolmer et al. (2010)
Lr64		*T. dicoccoides*	ювенильный	SSR	6AL	Xbarc 104; Xgwm 427	13,9 cM; 21,9 cM	MacIntosh et al., 2013
Lr65= LrAlt		*T. spelta*	ювенильный	SSR, AFLP	2AS	barc124, barc212, gwm614	2,0 cM	Mohler et al. (2012)
				SSR		Xbarc212, Xwmc382	1,8 cM	Wang et al., 2010b
Lr66=LrS 13		*Ae. speltoides*	ювенильный	SCAR	3A	S13-R16	косегрегирует	Marais et al. (2010b)
Lr67/ Yr46		*T. aestivum*	возрастной	SSR	4DL	Xcfd71 Xcfd23	1,5 cM	Hiebert et al., 2010a
						gwm165 gwm192	0,4 cM	Herrera-Foessel et al., 2011
Lr68		*T. aestivum*	возрастной	SSR, CAPS	7BL	cs7BLNLRR	0,8 cM	Herrera-Fossel et al.,2012
						csGS	1,2 cM	
						Psy1-1	0,5 cM	
						gwm146	0,6 cM	

Продолжение таблицы 1

Название *Lr*-гена	Сцеплен с другими генами	Происхождение/ транслокация	Тип	Тип маркера	Хромосомная локализация	Название маркера Фланкирующие маркеры	Генетическая дистанция/сцеп ле-ние, сМ	Литературный источник
Lr70		*T. aestivum*		SSR	5DS	Xgwm 190	нет данных	Thomas et al., 2012
Lr71= LrARK12		*T. spelta*		SSR	1B	Xgwm 18; Xbarc 187	1,0 cM; 0,5 cM	MacIntosh et al., 2013
Lr72		*T. durum*		SSR	7BS	Xwmc606-7B	5,0 cM	Herrera-Fossel et al.,2013
Lr73		*T. aestivum*		нет данных	2BS	Pt8760	4 cM	Park et al., 2013
						wPt8235	1,4 cM	
Lr74		*T. aestivum*		нет данных	3BL	GBS2256311	3,9 cM	Temesgen B, Chhetri M et al. 2015 Personal communication. McIntosh et al., 2015
					нет данных	IWB69699/IWB20762	2,5 cM	
						GBS2325308	2,5 cM	
Lr75		*T. aestivum*		SSR	нет данных	gwm604 swm271	1,6 cM 2,7 cM	Singla et al., 2017
LrTm		*T. monococcum*		SSR	6A	Xgwm136	косегрегирует	Vasu et al., 2001
LrTr		*T. triunciales*		SSR	4BS	gwm368	косегрегирует	Aghaee-Sarbarzex et al., 2001
LrTt1		*T. timopheevii*		SSR	2A	Xgwm 817	1,5 cM	Leonova et al., 2004
LrZh84		*T. aestivum*		SSR	1BL	Xbarc 8; Xgwm 582	5,2 cM; 3,9 cM	Zhao et al., 2008
LrWO		*T. turgidum дурум?*	ювенильный	SSR	5BS	gwm234 wPt-1420	7,2cM 20,3 cM	Singh et al. (2010)

Продолжение таблицы 1

Название *Lr*-гена	Сцеплен с другими генами	Происхождение/ транслокация	Тип	Тип маркера	Хромосомная локализация	Название маркера Фланкирующие маркеры	Генетическая дистанция/сцеп ле-ние, сМ	Литературный источник
LrTt2		*T. timopheevii var. viticulosum*		SSR	5BL	Xgwm1257	нет данных	Leonova et al., 2010a
LrAsp.5		*Ae. speltoides*		SSR	5BL	Xgwm1043, Xgwm777, Xgwm408	Выявляют транс	Адонина и др., 2012
LrBi16		*T. aestivum*		нет данных	7BL	Zcfa2257 Xgwm344	2,8 сМ 2,9 сМ	Zhang et al., 2011
LrFun		*T. aestivum*		SSR	7BL	Xgwm344 Xwmc70	4,4 сМ 5,7сМ	Xing et al., 2014
LrGam6		*T. aestivum*		SSR	2BL	Xbarc	0,6 сМ	Ingala et al., 2012
						Xgwm382	0,6 сМ	
						Xgwm528	17,9 сМ	
LrNJ97		*T. aestivum*		нет данных	2BL	Xwmc317	4,2 сМ	Zhou et al., 2013
						Xbarc159	2,2 сМ	
						Xwmc356	2,3 сМ	
LrSV1		нет данных		нет данных	2DS	Xgwm296	1,4 сМ	Ingala et al., 2012
						Xgwm261	7,1 сМ	
LrSV2		нет данных		нет данных	3BS	Xgwm389	3,0 сМ	Ingala et al., 2012
						Xgwm49	4,2 сМ	

Приложение: таблица 2. Оценка интрогрессивных линий по устойчивости к болезням, листовой и жёлтой ржавчинам септориозу и мучнистой росе

Название линии	2012			2013			2015			2018			2019			
	Листовая ржавчина	Мучнистая роса	Септориоз	Листовая ржавчина	Мучнистая роса	Септориоз	Листовая ржавчина	Мучнистая роса	Септориоз	Листовая ржавчина	Мучнистая роса	Септориоз	Листовая ржавчина	Мучнистая роса	Септориоз	Жёлтая ржавчина
МК/1	1	20	_	1-2	20	15	1	20	25	1	10	10	2	20	20	2
МК/2	2	10	_	3	20	15	3	15	10	3	20	20	2	15	15	2
МК/3	2	25	_	1	15	15	1	15	15	3	35	20	2	40	10	2
МК/4	2	30	_	2	15	20	1	15	15	1	35	15	2	40	20	2
МК/5	1	25	_	2	10	20	1	10	10	1	15	20	1	40	15	4
МК/6	1	40	_	1	35	10	01	15	15	1	30	10	1	40	10	2
МК/7	01	25	_	1	30	10	01	20	15	01	30	20	1-	20	15	_
МК/8	2	10	_	1	5	15	1	15	15	2	10	15	1	20	20	_
МК/9	1	5	_	1	10	15	1	10	20	2	10	15	1	15	15	_
МК/10	2	10	_	1	5	10	1	5	5	01-1	5	10	1-	10	20	_
МК/11	1	15	_	2	10	10	1	10	15	1	10	10	1	15	10	01
МК/12	01	10	10	1	5	15	01	15	10	1-	10	15	1-	10	5	_
МК/13	2	15	15	2	10	20	01	15	15	1	10	20	2	10	20	_
МК/14	4	20	20	3	15	20	1	20	10	3	10	15	3	20	20	_
МК/15	1	_	25	2	_	30	2	_	20	1	_	25	1-	_	25	01
МК/16	1	_	_	1	_	_	01	_	_	2	_	_	1	_	_	2
МК/17	01	_	_	1	_	_	01	_	_	01	_	_	1-	_	_	1
МК/18	01	25	_	01	40	_	01	35	_	01	25	_	1	40	_	1
МК/19	2	10	15	2	10	15	1	5	10	2	10	10	3	10	10	2
МК/20	4	5	25	3	15	20	4	10	25	1	10	25	1	5	30	01
МК/21	01	20	15	01	10	15	1	20	10	1	10	10	1-	20	30	_
МК/22	1	5	20	2	10	15	1	15	20	2	10	20	1	10	20	_
МК/23	01	10	5	1	10	10	01	5	10	01	5	10	1-	10	15	_
МК/24	1	10	25	2	15	15	1	15	30	1	15	20	1-	10	25	1
МК/25	01	_	_	2	_	_	1	_	_	1	_	_	1	_	_	_
МК/26	2	_	_	2	_	_	2	_	_	2	_	_	1	_	_	2
МК/27	1	25	_	1	30	_	1	35	_	01	30	_	1	40	_	3
МК/28	1	15	_	01	10	_	1	5	_	1	10	_	2	15	_	2
МК/29	4	20	_	3	20	_	2	15	_	4	10	_	3	20	_	2
МК/30	1	25	_	1	30	_	1	30	_	1	15	_	2	40	_	2
МК/31	2	_	_	2	_	_	01	_	_	2	_	_	3	_	_	2
МК/32	01	30	10	01	40	5	01	25	5	1	30	10	1-	30	10	_
МК/33	2	_	_	1	_	_	2	_	_	2	_	_	2	_	_	1
МК/34	3	25	_	2	30	_	2	25	_	2	35	_	1	30	_	4
МК/35	1	_	_	2	_	_	1	_	_	1	_	_	1	_	_	_
МК/36	2	10	15	1	5	10	1	15	15	1	10	15	1	15	15	_
МК/37	1	_	_	1	_	_	2	_	_	1	_	_	1	_	_	_
МК/38	3	20	15	2	15	10	3	20	10	2	15	30	4	15	10	1

Продолжение таблицы 2

Название линии	2012			2013			2015			21018			2019			
	Листовая ржавчина	Мучнистая роса	Септориоз	Листовая ржавчина	Мучнистая роса	Септориоз	Листовая ржавчина	Мучнистая роса	Септориоз	Листовая ржавчина	Мучнистая роса	Септориоз	Листовая ржавчина	Мучнистая роса	Септориоз	Жёлтая ржавчина
МК/39	1	_	_	1	_	_	2	_	_	1	_	_	1	_	_	_
МК/40	3	20	15	1	20	20	2	25	20	2	15	10	2	20	20	_
МК/41	1-	5	10	01	10	5	1	10	15	1	15	15	01	10	15	_
МК/42	1	30	15	1	25	25	2	30	20	1	15	20	1	10	30	_
МК/43	1	10	15	01	15	15	1	10	15	01	20	20	01	20	20	_
МК/44	1-	_	_	1	_	_	2	_	_	1	_	_	1	_	_	_
МБ/1	2	5	10	1	10	10	2	10	10	2	10	10	2	10	10	_
МБ/2	3	10	10	2	5	10	1	10	_	3	10	10	3	10	5	_
МБ/3	1	15	15	2	15	20	1	20	15	1		15	1	10	15	_
МБ/4	3	20	15	4	25	20	3	20	15	3	15	15	3	10	15	_
МБ/5	4	15	15	3	15	15	2	10	10	3	10	10	3	15	15	_
МБ/6	1	5	25	01	10	15	1	10	15	01	5	10	1	10	15	_
МБ/7	2	20	15	1	15	15	01	10	15	01	10	10	1	10	15	2
МБ/8	1-	15	_	2	20	_	01	15	_	1	10	_	01	15	_	1
МБ/9	1	10	10	2	15	15	01	15	10	2	5	15	1	30	10	1
МБ/10	1	5	10	2	10	10	2	5	15	2	10	10	2	5	10	_
МБ/11	01	20	20	1	10	15	1	15	15	1	20	20	1	25	20	2
МБ/12	01	15	10	1	15	15	01	20	10	01	15	20	1-	20	15	01
МБ/13	01	10	15	01	20	20	01	15	20	2	15	20	01	15	20	01
МБ/14	4	20	20	3	15	10	1	15	15	3	10		3	20	20	_
МБ/15	01	35	20	1	10	15	01	30	15	01	30	20	01	15	20	_
МБ/16	1	20	_	1	25	_	2	25	_	2	30	15	2	30	_	3
МБ/17	2	10	10	1	15	20	2	15	15	2	15	15	1	10	20	3
МБ/18	1	5	10	1	10	10	2	10	15	1	10	10	1	10	10	1
МБ/19	1	20	15	2	20	10	1	25	15	1	30	10	01	30	15	01
МБ/20	1-	40	20	01	30	15	1	35	15	01	30	10	1	40	20	2
МБ/21	1	10	15	01	15	15	01	5	10	01	10	10	01	10	15	1
МБ/22	2	_	_	2	_	_	1	_	_	2	_	_	01	_	_	2
МБ/24	2	_	_	1	_	_	1	_	_	1	_	_	1	_	_	01
МБ/25	1	_	_	1-	_	_	01	_	_	1	_	_	01	_	_	_
МБ/26	01	10	10	01	5	15	01	5	5	01	5	10	1-	5	15	_
МБ/28	1	_	_	2	_	_	2	_	_	2	_	_	1	_	_	_
МБ/29	1	15	15	1	10	15	01	15	15	01	20	15	01	15	15	2
МБ/30	1	15	20	01	15	25	01	15	15	1	15	20	01	10	15	01
МБ/31	1	_	_	2	_	_	2	_	_	1	_	_	1	_	_	_
СМК/1	1	30	15	1	15	15	2	15	15	2	15	15	1	10	20	_
СМК/2	1	40	5	1	30	10	01	10	5	1-	10	10	2	30	5	1
СМК/3	1	40	20	1	35	15	01	10	15	01	10	15	1	40	15	2
СМК/4	0	35	10	0	25	15	01	30	15	1	10	10	01	30	15	3-4

Продолжение таблицы 2

Н аз ва ни	2012	2013	2015	21018	2019

	Листовая ржавчина	Мучнистая роса	Септориоз	Листовая ржавчина	Мучнистая роса	Септориоз	Листовая ржавчина	Мучнистая роса	Септориоз	Листовая ржавчина	Мучнистая роса	Септориоз	Листовая ржавчина	Мучнистая роса	Септориоз	Жёлтая ржавчина
СМК/5	0	10	15	01	15	15	01	10	15	1-	5	5	01	20	15	3
СМК/6	0	35	15	1	40	10	01	30	15	1-	5	10	01	40	10	3
СМК/7	0	20	10	1-	20	15	01	15	15	1-	5	10	01	20	20	3
СМК/8	2	10	15	1	20	20	01	10	15	1-	15	20	01	5-10	15	1/2
СМК/9	1	15	15	1	10	20	01	20	15	1-	10	20	01	5-10	15	1
СМК/10	01	10	15	1	15	20	01	15	15	1-	15	20	01	15	10	2
СМК/11	1-	10	15	01	10	10	01	10	15	1	15	15	1	10	10	3
СМК/12	1	_	10	2	_	15	2	_	5	1	_	10	1	_	10	_
СМК/13	1	_	15	2	_	15	2	_	10	2	_	15	2	_	15	2
СМК/14	01	15	15	1	10	10	1	20	15	01	10	15	1	15	15	01
СМК/15	01	_	_	1	_	_	1	_	_	01	_	_	01	_	_	01
СМК/16	01	_	_	1	_	_	01	_	_	01	_	_	01	_	_	01
СМК/17	2	_	_	2	_	_	01	_	_	1	_	_	1	_	_	_
СМК/18	1	_	_	1	_	_	01	_	_	01	_	_	1-	_	_	3
СМК/19	2	5	5	2	10	10	2	5	10	2	10	5	2	10	10	1-
СМК/20	01	10	25	1	5	20	01	5	30	1-	10	25	1	10	25	01
СМК/21	2	30	15	1	25	10	1	15	15	1	10	15	2	30	15	_
СМК/22	2	10	15	1	15	15	1	10	15	1	10	15	1	10	15	_
СМК/23	2	10	20	2	5	10	1	10	10	2	10	20	2	10	20	_
СМК/24	2			2			1			2	10	10	2			_
СМК/25	1	15	20	2	15		01	15	15	01	15	10	1	5	15	_
СМК/26	1	10	10	1	10	10	01	5	10	01	15	10	1-	5	5	_
СМК/29	1	10	20	1	10	10	1	15	15	1	10	20	1	10	20	1
СМК/30	1	10	10	01	10	5	01	10	15	1	10	10	01	10	10	2
СМК/31	1	25	_	01	30		1-	20	_	1	20		1-	25	_	_
СМК/32	4	_	_	3	_	_	4	_	_	2	_	_	4	_	_	_
СМК/33	01	10	_	1-	15	_	2	20	_	2	5	_	1	10	_	01
СМК/34	1	_	_	1	_	_	2	_	_	2	_	_	1	_	_	01
СМК/35	1	15	_	01	10	_	01	10	_	01	5	_	1	10	_	01
СМК/36	1	10	_	01	5	_	01	20	_	2	20	_	1	10	_	_
СМК/37	1	35	_	1	30	_	01	25	_	1		_	1	30	_	1
СМБ/1	1-	15	10	1	45	20	1	15	15	2	15	20	2	50	15	_
СМБ/2	1	20	20	2	30	15	1	15	10	1	10	20	1	30	20	_
СМБ/3	1-	25	20	01	25	10	01	15	15	2	20	20	2	40	15	1
СМБ/4	0	20	15	01	15	15	01	20	15	2	15	15	2	15	15	4
СМБ/5	2	15	15	1	15	15	1	15	15	2	15	20	1	40	10	2
СМБ/6	2	25	20	2	20	15	2	20	15	3	20	20	1	40	20	_
СМБ/7	1	10	20	1	30	20	1	20	10	2	10	15	2	30	20	4
СМБ/8	2	30	15	1	25	10	1	20	15	1	5	15	1	30	15	_

Продолжение таблицы 2

Н аз ва ни	2012	2013	2015	21018	2019

	Листовая ржавчина	Мучнистая роса	Септориоз	Листовая ржавчина	Мучнистая роса	Септориоз	Листовая ржавчина	Мучнистая роса	Септориоз	Листовая ржавчина	Мучнистая роса	Септориоз	Листовая ржавчина	Мучнистая роса	Септориоз	Жёлтая ржавчина
СМБ/9	01	30	25	1	25	25	01	25	25	1	5	15	01	30	15	_
СМБ/10	01	15	15	01	25	25	1	15	15	1	15	15	01	10	15	2
СМБ/11	01	10	15	1	10	10	01	5	5	1	10	15	1	30	15	_
СМБ/12	01	10	15	1-	20	20	1	10	20	1	5	15	2	20	20	2
СМБ/13	01	10	10	01	10	15	01	15	10	01	15	15	01	5	10	_
СМБ/14	01	20	15	1	15	15	01	20	15	01	15	20	01	20	15	_
СМБ/15	1	15	15	01	20	10	0	20	15	01	15	15	01	15	15	_
СМБ/16	01	20	20	1	20	15	1	15	25	01	20	20	01	20	20	_
СМБ/17	1	5	5	1	10	15	1	5	10	1	5	5	2	5	5	01
СМБ/18	2	10	15	1	5	5	1	5	10	1	5	5	1	10	5	3
СМБ/19	1	5	5	01	5	10	1	5	5	01	5	5	1-	10	10	1-
СМБ/21	1	20	15	01	15	10	01	20	10	1	5	15	1	20	20	1
СМБ/22	2	15	20	1	15	15	1	20	25	2	15	20	01	10	10	01
СМБ/23	2	15	20	2	10	20	01	15	15	2	15	20	1	15	15	1
СМБ/24	2	20	20	1	10	15	1	20	20	2	15	20	01	10	15	2
СМБ/25	1	20	15	2	15	20	1	15	20	2	15	20	01	15	15	01
СМБ/26	2	20	20	1	25	20	01	15	15	3	15	20	01	20	20	_
СМБ/27	2	20	25	2	20	30	1	15	25	2	20	15	01	20	30	01
СМБ/28	1	15	10	2	10	5	2	10	10	2	15	10	2	10	5	3
СМБ29	1-	20	_	1	10	_	01	25	_	1	20	_	01	20	_	01
СМБ/30	3	25	20	1	25	15	01	20	20	1	25	15	1	25	20	_
СМБ/31	4	25	20	3	30	20	3	15	15	2	25	20	1	25	20	01
СМБ/32	1-	40	20	1-	45	20	1	30	15	1-	35	15	1	40	20	2/3
СМБ/34	1	10	10	2	15	5	2	5	5	2	10	10	1	5	10	1
СМБ/35	1	5	10	01	10	10	01	10	5	1	10	10	01	10	5	2
СМБ/36	2	10	20	2	20	15	1	15	15	3	10	20	1	10	20	_
СМБ/37	2	10	15	2	10	10	1	5	15	2	10	15	2	20	15	_
СМБ/38	1	15	20	2	15	15	1	20	15	2	10	15	2	10	15	_
СМБ/39	01	15	5	1	10	10	01	15	15	01	10	10	1	15	5	_
СМБ/40	1	10	20	2	20	15	1	15	15	1	10	20	1	10	20	1
СМБ/41	1-	10	20	1-	20	10	01	5	15	1	10	10	01	10	20	01
СМБ/42	2	10	15	2	15	15	1	10	20	1	10	15	01	10	15	01
СМБ/43	01	15	10	1	10	10	1-	20	10	1	10	10	01	15	15	_
СМБ/44	01	_	_	01	_	_	01	_	_	1	_	_	1	_	_	_
СМБ/46	1	_	_	1	_	_	1	_	_	1	_	_	2	_	_	2
СМБ47	2	_	_	2	_	_	1	_	_	1	_	_	1	_	_	2
СМБ48	2	_	_	1	_	_	1	_	_	1	_	_	1	_	_	_
СМБ49	1	35	_	2	40	_	1	30	_	1	25	_	1	35	_	2
СМБ50	01		_	1	15	25	1-		_	1		_	2		_	_

Продолжение таблицы 2

Название линии	2012			2013			2015			21018			2019			
	Листовая ржавчина	Мучнистая роса	Септориоз	Листовая ржавчина	Мучнистая роса	Септориоз	Листовая ржавчина	Мучнистая роса	Септориоз	Листовая ржавчина	Мучнистая роса	Септориоз	Листовая ржавчина	Мучнистая роса	Септориоз	Жёлтая ржавчина
СМБ/51	2	25	20	3	25	25	01	25	25	1	20	25	2	10	20	2
СМБ/52	1	25	25	3	25	25	01	20	15	2	20	20	1	25	25	_
АА/1	3	15	15	4	10	15	2	15	20	3	10	15	2	20	10	-
АА/2	2	20	15	2	10	-	01	20	15	1-	5	5	1	20	5	-
АА/3	3	10	45	2	5	30	3	15	45	4	5	35	3	10	45	4
АА/4	1	10	15	1	5	5	1	10	20	1	15	10	2	-	-	1
АА/5	1	45	20	1	50	15	1	25	15	1-	50	20	01	45	20	2
АА/6	2	50	20	2	45	20	1	10	20	1	10	15	01	45	10	1
АА/7	1	35	15	2	30	15	01	50	15	1	15	15	01	35	20	2
АА/8	2	15	40	2	15	10	2	10	50	2	15	10	01	15	30	2
АА/9	1	15	10	1	5	10	01	20	15	1-	10	15	01	10	10	1
АА/10	1	10	15	01	15	5	01	5	10	1-	15	15	01	10	20	01
АА/11	1	10	15	1	5	5	1	10	10	1	10	10	01	15	15	01
АА/12	4	15	15	2	15	10	4	5	10	4	15	15	3	15	15	-
АА/13	3	15	20	3	10	20	4	15	20	4	15	20	4	15	10	1
АА/14	1	15	20	1	20	15	2	10	20	2	15	15	2	10	20	01
АА/15	2	20	20	1	15	10	1	20	20	2	20	20	2	15	15	_
АА/16	1	15	10	01	5	5	01	5	20	1	10	5	01	15	10	2
АА/17	2	-	-	1	-	-	1	-	-	2	-	-	1	-	-	-
АА/18	1	-	-	1	-	-	2	-	-	2	-	-	1	-	-	-
АА/19	1	-	-	2	-	-	1	-	-	1	-	-	1	-	-	-
АА/20	1	-	-	1	-	-	1	-	-	2	-	-	1	-	-	-
АА/21	2	5	10	2	10	10	01	5	10	2	10	20	1	5	10	-
АА/22	2	35	15	2	30	20	1	15	15	2	10	15	1	30	15	-
АА/23	01	45	10	01	25	15	0	35	10	1	35	10	01	45	10	01
АА/24	1	40	15	01	45	20	0	25	10	1-	40	10	01	30	15	_
АА/25	01	10	20	01	15	15	1	10	15	1-	15	20	01	35	10	-
АА/26	2	35	20	1	10	10	01	20	20	1	25	15	1	-	-	-
АА/27	1	15	30	1	10	30	01	15	20	2	5	10	1	15	15	2
АА/28	1	45	15	01	40	10	01	35	15	1	10	20	01	45	20	-
АА/29	01	5	20	01	10	15	01	5	15	1-	5	15	1	5	20	-
АА/30	1	10	15	01	15	15	01	10	5	1	10	35	01	15	10	1
АА/31	1	15	15	1	20	20	2	15	10	1-	20	15	1	20	10	-
АА/32	01	10	15	1	5	20	01	5	15	1-	15	10	01	10	10	1
АА/33	1	35	10	01	25	10	0	30	15	0	10	10	01	35	15	1
АА/34	1	45	10	01	45	5	01	45	5	2	15	15	01	45	10	-
АА/35	1	25	15	2	35	15	1	10	15	1	10	15	1	20	20	1
АА/36	1	10	15	01	10	20	01	5	10	1	10	10	1	10	15	1
АА/37	1	-	-	1	-	-	2	-	-	1	-	-	1	-	-	-_

Продолжение таблицы 2

Название линии	2012			2013			2015			21018			2019			
	Листовая ржавчина	Мучнистая роса	Септориоз	Листовая ржавчина	Мучнистая роса	Септориоз	Листовая ржавчина	Мучнистая роса	Септориоз	Листовая ржавчина	Мучнистая роса	Септориоз	Листовая ржавчина	Мучнистая роса	Септориоз	Жёлтая ржавчина
АБ/1	01	15	20	1	10	15	1	20	20	01	15	20	01	15	20	1
АБ/2	2	20	10	2	15	15	2	20	5	3	20	20	01	20	10	1
АБ/3	2	25	15	1	30	20	2	20	15	2	30	15	1	25	15	1
АБ/4	1	_	_	1	_	_	1	_	_	2	_	_	1			
АБ/5	4	20	15	1	15	10	1	15	15	4	15	20	1	20	15	1
АБ/6	4	10	20	3	10	10	3	15	15	4	5	20	1	10	20	1
АБ/7	4	_	_	4	_	_	3	_	_	4	_	_	3	_	_	_
АБ/8	4	_	_	4	_	_	4	_	_	4	_	_	4	_	_	_
АБ/9	4	30	_	3	20	_	4	25	_	4	25		3	25	_	
АБ/10	4	_	_	4	_	_	4	_	_	4	_	_	1	_	_	4
АБ/11	2	60	20	1	50	15	01	15	15	01	15	15	01	60	20	01
АБ/12	3	15	15	3	20	20	2	15	15	2	15	15	1	10	15	1
АБ/13	3	15	20	3	15	15	2	20	20	3	15	10	1-	10	20	1-
АБ/14	3	20	15	3	10	20	4	10	20	3	15	15	01	10	20	1-
АБ/15	01	15	35	2	15	40	1	20	35	2	15	15	01	20	40	2
АБ/16	4	20	20	3	15	20	3	20	20	3	15	15	2	10	20	1
АБ/17	3	25	15	2	20	20	4	30	10	3	15	15	1	25	10	01
АБ/18	1	15	15	1	10	5	1-	15	20	01	15	15	01	10	10	1
АБ/19	1	15	10	1	20	20	1	15	15	1	15	15	01	10	10	1-
АБ./20	1	30	25	1	25	25	01	40	15	01	10	10	01	30	25	01
АБ/21	01	15	20	1	20	20	1	10	20	1	15	15	1	10	20	01
АБ/22	2	_	_	2	_	_	1	_	_	2	_	_	01			1
АБ/23	2	30	_	2	20		1	25	_	1	20	_	1	25		2
АБ/24	2	20	15	1	25	15	2	20	15	1	15	15	1	30		_
АК/1	01	15	15	1	10	5	1	15	15	2	5	15	1	20	10	_
АК/2	01	15	15	1	10	10	01	15	15	1	25	15	1-	10	10	_
АК/3	01	15	15	01	15	20	01	15	15	1-	10	15	1	20	15	_
АК/4	0	10	10	1	5	10	01	15	5	1-	5	5	1-	10	10	1
АК/5	1	20	15	3	10	15	1	20	15	4	15	20	3	20	20	1
АК/6	01	_	_	1	_	_	1	_	_			1	_	_	_	
АК/7	4	10	20	3	15	15	3	20	20	2	10	20	3	10	20	1
АК/8	01	20	20	1	10	25	1	15	15	2	20	15	01	10	20	2
АК/9	01	15	15	1	20	20	01	15	20	01	15	15	01	15	10	_
АК/10	1	15	30	1	20	25	1	10	20	1	15	30	1	10	15	1
АК/11	3	15	_	2	10	_	1	20	_	1	15	_	01	20	_	01
АК/12	01	_	_	1	_	_	01	_	_	01	_	_	01	_	_	_
АК/13	3	_	_	3	_	_	4	_	_	3	_	_	3	_	_	01
АК/14	3	_	_	1	_	_	2	_	_	2	_	_	01	_	_	1
АК/15	1	25	_	2	30	_	01	20	_	1	30	_	1	30	_	1-

Продолжение таблицы 2

Название линии	2012			2013			2015			21018			2019			
	Листовая ржавчина	Мучнистая роса	Септориоз	Листовая ржавчина	Мучнистая роса	Септориоз	Листовая ржавчина	Мучнистая роса	Септориоз	Листовая ржавчина	Мучнистая роса	Септориоз	Листовая ржавчина	Мучнистая роса	Септориоз	Жёлтая ржавчина
АК/16	1	_	_	1	_	_	2	_	_	1	_	_	01			01
АК/17	2	_	_	2	_	_	2	_	_	1	_	_	01			01
АК/18	3	15	15	3	20	15	4	15	10	3	5	15	2	15	15	2
АК/19	1	_	15	01	_	29	01	_	5	1-	_	10	1	_	10	_
АК/20	1	20	5	01	15	10	1	10	10	01	10	5	01	20	10	_
АК/21	01	20	10	01	15	5	01	10	5	01	5	10	1	20	10	_
АК/22	01	20	10	01	15	15	01	10	5	1	20	10	1	20	10	_
АК/23	01	10	10	01	5	10	01	5	5	01	10	10	1	10	10	4
АК/24	01	30	10	01	25	5	01	15	15	1	30	10	1	30	10	2
АК/25	01	20	15	01	15	15	01	20	10	1	20	15	1	20	10	_
АК/26	2	15	15	1	25	10	2	20	20	2	10	15	1	15	10	2
АК/27	1	20	10	2	10	10	2	15	5	1	15	10	2	20	10	_
АК/28	1	15	20	1	15	15	2	15	15	1	15	20	01	20	20	01
АК/29	01	_	_	1-	_	_	1	_	_	1	_	_	01	_	_	_
АК/30	2	_	_	1	_	_	1	_	_	2	_	_	2	_	_	3
АК/31	01	50	5	01	20	15	01	10	10	1	5	15	01	10	20	_
АК/32	01	20	20	01	25	15	01	30	20	1	30	5	01	40	10	_
АК/33	01	50	10	1	45	15	01	10	15	1	55	10	01	50	10	_
АК/34	1	50	10	01	50	5	01	45	5	01	45	5	01	10	10	_
АК/35	4	10	20	2	15	20	2	15	15	1	10	20	1	5	15	_
КАБ/1	2	30	20	1	25	25	1	25	20	3	15	10	2	30	15	_
КАБ/2	1	10	10	1	5	10	1-	15	15	2	5	5	1	10	10	3
КАБ/3	01	15	30	01	10	25	1	10	30	1	15	20	01	15	30	1
КАБ/4	2	20	20	1	15	20	1	25	25	3	20	15	1	10	20	1
КАБ/5	1	10	10	2	25	15	1	25	15	3	15	15	2	25	15	3
КАБ/6	01	10	5	1	15	10	1	5	15	1	15	10	1	15	10	2
КАБ/7	1	20	15	0	15	15	01	10	10	1-	25	5	1	15	15	01
КАБ/8	1	10	10	1	5	10	1	10	15	1	10	10	1	10	10	_
КАБ/9	01	20	10	1	15	5	01	15	15	1	20	10	01	20	15	_
КАБ/10	3	20	15	2	25	5		10	15	2	10	15	4	20	10	_
КАБ/11	1	_	_	1	_	_	01	_	_	2	_	_	1	_	_	2
КАБ/12	01	15	20	2	30	15	1	15	15	2	15	15	1	30	10	1
GS/1	2	10	10	2	15		01	30	15	1-	30	15	1	20	15	_
GS/2	01	10	10	1	5	10	2	5	5	2	15	5	1	10	10	2
GS/3	1	10	20	1	5	25	2	20	20	2	10	20	1	10	20	1
GS/4	01	15	15	01	10	15	1	15	10	1	10	10	01	15	15	01
GS/5	01	15	20	1	20	20	01	10	15	01	15	20	01	10	20	1
GS/6	1	10	20	01	15	15	01	20	20	01	10	15	01	10	20	1
GS/7	1	40	15	2	30	5	01	25	10	4	15	15	1	40	15	_

Продолжение таблицы 2

Название линии	2012			2013			2015			21018			2019			
	Листовая ржавчина	Мучнистая роса	Септориоз	Листовая ржавчина	Мучнистая роса	Септориоз	Листовая ржавчина	Мучнистая роса	Септориоз	Листовая ржавчина	Мучнистая роса	Септориоз	Листовая ржавчина	Мучнистая роса	Септориоз	Жёлтая ржавчина
GS/8	4	40	20	3	30	10	3	25	15	3	20	15	2	40	20	_
GS/9	1	30	15	2	25	20	1	35	15	1	25	20	1	35	15	_
GS/10	3	15	15	3	25	10	3	20	10	4	10	15	1	15	15	_
GS/11	2	20	15	3	20	10	3	20	5	4	15	15	3	20	15	_
GS/12	3	25	10	3	15	15	1	25	10	3	5	10	3	20	10	_
GS/13	2	30	10	1	10	10	1	30	5	2	10	10	2	30	5	2
GS/14	1	20	5	01	15	5	1	20	10	1	5	5	01	20	5	_
GS/15	1	20	5	01	10	5	1	20	10	01	10	5	01	20	5	_
GS/16	1-	20	15	1	15	15	01	10	10	1	10	15	01	20	15	_
GS/17	1	15	15	2	20	20	1	20	10	1	10	15	2	15	15	1
GS/18	2	20	30	3	15	25	3	10	30	4	15	15	4	20	30	4
GS/19	01	15	20	1	15	20	01	15	15	0	10	20	01	10	20	2
GS/20	01	40	10	1	35	15	01	40	15	01	10	10	01	40	10	_
GS/21	01	15	15	01	20	15	01	15	20	01	15	15	01	10	10	_
GS/22	01	25	10	01	30	5	1	10	10	1	15	10	01	25	10	_
GS/23	3	50	10	01	40	5	4	50	10	4	20	5	3	30	10	_
GS/24	1	15	20	2	10	15	01	15	10	1	15	20	01	15	20	01
GS/25	01	10	15	01	15	5	01	5	5	01	10	10	01	10	15	01
GS/26	01	10	15	1	5	5	01	15	15	01	10	10	01	10	15	01
GS/27	1	15	30	1	20	20	1	10	25	01	15	20	1	10	30	1
GS/28	01	_	_	01	_	_	1	_	_	01	_	_	01	_	_	_
GS/29	1	5	25	1	5	10	1	5	25	01	5	10	01	5	10	_
GS/30	01	_	_	1	_	_	01	_	_	01	_	_	01	_	_	_
GS/31	1	10	15	01	10	10	1	10	15	01	15	10	01	15	15	_
GS/32	1	30	10	1	30	10	01	15	25	01	30	25	01	30	30	_
GS/33	01	5	15	01	10	15	1	10	10	01	5	10	01	5	15	_
GS/34	3	30	30	2	25	30	1	25	20	2	35	30	1	30	30	_
SM/1	01	30	15	01	25	20	01	20	15	1	30	10	1	30	10	_
SM/2	1	20	15	01	15	15	01	15	10	01	15	10	01	20	10	2
SM/3	01	15	15	01	5	10	01	15	15	01	10	10	01	20	15	_
SM/4	01	20	15	1	20	10	01	15	15	01	20	10	01	20	15	2
SM/5	1	25	5	2	30	20	01	30	20	1	30	20	1	20	20	3
SM/6	01	35	5	01	35	15	1	30	15	0	10	15	01	35	20	_
SM/7	01	30	10	20	15		01	15	15	1	10	10	01	30	5	_
SM/8	1	35	10	01	40	5	1	30	15	01	10	10	01	35	10	_
SM/9	1	10	10	01	5	15	01	5	5	01	10	10	1	10	5	_
SM/10	01	10	5	1	10	10	1	5	10	01	10	10	01	5	10	_
SM/11	1	15	15	01	10	15	1	5	10	01	15	15	01	15	15	_
SM/12	01	_	_	1	_	_	1	_	_	2	_	_	1	_	_	_

Продолжение таблицы 2

Н аз ва	2012	2013	2015	21018	2019

	Листовая ржавчина	Мучнистая роса	Септориоз	Листовая ржавчина	Мучнистая роса	Септориоз	Листовая ржавчина	Мучнистая роса	Септориоз	Листовая ржавчина	Мучнистая роса	Септориоз	Листовая ржавчина	Мучнистая роса	Септориоз	Жёлтая ржавчина
SM/13	01	10	10	1	5	10	2	5	10	01	10	10	1	15	15	_
SM/14	2	30	20	01	25	20	1	30	10	01	15	20	01	30	15	2
SM/15	3	_	25	3	_	30	2	_	35	3	_	30	_	_	30	_
SM/16	01	15	20	01	20	20	1	15	10	1	15	20	01	20	20	01
SM/17	01	10	15	1	15	15	01	10	5	01	10	15	1	10	15	1
SM/18	01	15	15	1	10	15	01	5	10	01	10	15	1	10	15	01
SM/19	2	30	20	3	25	15	1	15	20	1	30	15	1	30	10	2/3
SM/20	2	10	20	1	15	20	01	10	10	1	5	15	1	10	20	1
SM/21	1	_	_	2	_	_	1	_	_	1	_	_	1	_	_	1
SM/22	1	_	_	1	_	_	1	_	_	01	_	_	1	_	_	01
SM/23	01	10	10	01	10	10	1	5	10	01	5	5	01	10	15	_
SM/24	1	20	20	1	20	20	1	15	20	1	10	20	2	10	20	2
SU/1	01	10	20	01	15	15	01	15	10	1	10	15	1	10	15	2
SU/2	1	20	10	2	15	5	1	20	15	1	20	10	1	20	10	2
SU/3	1	_	_	1	_	_	1	_	_	2	_	_	1	_	_	_
SU/4	1	_	_	1	_	_	1	_	_	1	_	_	1	_	_	1
SU/5	2	10	15	1	10	10	01	15	25	1	10	25	01	15	25	1
SU/6	3	_	_	3	_	_	4	_	_	3	_	_	2	_	_	2
SU/7	1	_	_	2	_	_	01	_	_	1	_	_	1	_	_	3
SU/8	3	25	30	2	30	30	1	20	20	2	15	30	1	25	30	_
SU/9	1	_	_	1	_	_	2	_	_	1	_	_	1	_	_	_
SU/10	3	30	25	1	30	35	01	25	30	2	30	30	1	25	35	_
SU/11	3	30	30	1	25	30	2	20	25	1	15	35	1	35	30	_
SU/12	3	25	25	1	25	30	1	15	30	2	30	30	1	25	30	_
SU/13	2	20	20	1	20	25	2	15	25	2	20	30	1	20	25	_
SU/14	2	25	25	1	25	30	2	15	30	1	30	30	1	25	30	_
SU/15	3	25	25	1	15	30	2	20	20	1	30	25	2	25	25	_
SU/16	1		30	1		30			25	2		20	1		25	
SU/17	1	20	30	1	30	30	1	25	25	1	25	15	2	25	25	_
SU/18	2	25	_	1	25	_	2	25		2	30	_	2	20	_	_
SU/19	3	30	_	2	25	_	3	25	_	2	20	_	3	20	_	_
SU/20	1	30	30	2	35	30	1	30	20	1	15	20	2	10	30	_
SU/21	2	20	20	2	15	20	2	20	20	1-	20	20	01	20	20	_

Приложение: таблица 3. Характеристика линий по признакам «длина колоса», «число колосков в колосе» и «число зёрен в колосе» (2017г.)

Образец	Длина колоса, см					Число колосков в колосе, шт					Число зёрен в колосе, шт				
	Повт.1	Повт. 2	Повт. 3	Повт. 4	**среднее за год**	Повт.1	Повт. 2	Повт. 3	Повт. 4	**среднее за год**	Повт.1	Повт. 2	Повт. 3	Повт. 4	**среднее за год**
МБ/1	8,6	9,2	9,3	9	**9,03**	18	16	20	18	**18,00**	29,74	31,8	30,7	30,7	**30,75**
МБ/5	7,3	8,45	8,56	8,1	**8,1**	14	17	16	15	**15,67**	42,82	45,38	44,56	44,2	**44,25**
МК/9	7,5	7,7	7,15	7,4	**7,45**	18	16	17	17	**17,00**	30,46	34,1	29,94	31,3	**31,50**
МК/14	5,6	6,9	6,1	6,2	**6,2**	24	27	21	24	**24,00**	47,2	51,4	52,9	50,3	**50,5**
МК/2	8,9	9,34	9,15	9,1	**9,13**	14	16	18	16	**16,00**	42,96	46,27	45,76	44,8	**45,0**
СМБ/5	9,17	8,73	9,1	8,9	**9,0**	18	22	20	22	**20,00**	39,1	41,4	40,24	40,4	**40,25**
СМБ/8	9,65	12,14	11	10,8	**10,93**	20	22	18	18	**20,00**	36,74	38,8	36,2	37,3	**37,25**
СМК/16	9,13	9,4	10,2	9,5	**9,58**	20	23	20	22	**21,00**	42,29	45,14	45,33	44,2	**44,25**
АА/5	8,14	9,74	8,92	8,9	**8,93**	20	24	19	17	**21,00**	38,2	42,57	41,48	40,7	**40,75**
GS/17	8,54	9,57	9,3	9,2	**9,14**	19	20	18	21	**19,00**	35,42	38,51	36,18	37,1	**36,7**
КАБ/3	7,94	9,2	8,44	8,5	**8,53**	15	19	18	17	**17,33**	40,46	41,45	39,64	40,4	**40,52**
GS/3	13,73	15,58	14,97	14,7	**14,76**	18	23	22	22	**21,00**	42,22	45,48	41,9	43,3	**43,2**
SU/1	7,8	8,9	8,8	8,3	**8,5**	16	18	20	17	**18,00**	38,4	40,8	40,2	39,8	**39,8**
SM/2	8,93	9,68	9,3	9,1	**9,3**	17	18	22	19	**19,00**	33,7	35,74	34,9	34,6	**34,78**
АА/29	9,41	10,2	9,88	9,8	**9,83**	20	18	18	19	**18,67**	42,4	45,41	44,49	44,2	**44,1**
Аврора	7,6	8,2	8,2	7,8	**8,0**	22	24	20	20	**22,00**	32,44	37,22	35,93	35,2	**35,2**
Краснодарская 99	9,56	9,73	9,6	9,6	**9,63**	22	20	24	20	**22,00**	39,7	44,75	44,56	43	**43,00**
$НСР_{05}$					**0,37**					**1,62**					**3,57**

Приложение: таблица 4. Оценка интрогрессивных линий и контрольных сортов мягкой пшеницы по признаку «высота растения» (2017-2019 гг.)

Год	2017				2018				2019				**Среднее за 3 года**
Линия,	вар1	вар2	вар3	**среднее за 2017 год**	вар1	вар2	вар3	**среднее за 2018 год**	вар1	вар2	вар3	**среднее 2019 за год**	
МБ/30	82	80,0	78,0	80,0	83,0	85,0	86,0	84,7	81,4	82,2	79,9	81,2	**81,9**
СМК/25	62,0	61,8	60,4	61,4	64,3	59,7	62,3	62,1	61,7	62,8	60,1	61,5	**61,7**
GS/19	74,0	71,0	75,3	73,4	73,8	75,0	73,2	74,0	74,2	78,3	72,0	74,8	**74,1**
МБ/31	110,0	111,3	108,4	109,9	110,0	112,3	109,3	110,5	109,7	113,6	108,2	110,5	**110,3**
СМБ/12	71,0	72,4	70,1	71,2	69,9	71,5	72,0	71,1	72,3	70,1	73,0	71,8	**71,4**
GS/1	99,0	101,2	97,7	99,3	98,3	102,5	100,5	100,4	100,2	105,7	99,8	101,9	**100,5**
SM/2	83,0	84,2	82,9	83,4	82,4	86,3	83,2	84,0	83,4	82,9	85,0	83,8	**83,7**
СМК/4	68,0	65,7	69,3	67,7	70,0	66,2	67,6	67,9	66,9	60,1	69,3	65,4	**67,0**
СМК/8	86,0	82,3	88,5	85,6	86,3	87,1	86,0	86,5	85,2	87,8	82,0	85,0	**85,7**
МК/14	85,0	84,3	85,4	84,9	83,8	86,8	87,0	85,9	87,6	89,4	86,7	87,9	**86,2**
СМБ/29	90,0	91,2	90,5	90,6	90,9	88,2	90,4	89,8	89,8	93,7	85,2	89,6	**90,0**
АК/31	85,0	84,0	83,7	84,2	87,4	88,1	82,5	86,0	83,2	81,1	86,3	83,5	**84,6**
КАБ/11	84,0	82,3	85,4	83,9	82,4	80,3	84,7	82,5	86,0	85,2	86,8	86,0	**84,1**

Продолжении таблицы 5

Год	2017				2018				2019				**Среднее за 3 года**
Линия, Сорт	вар1	вар2	вар3	**среднее за 2017 год**	вар1	вар2	вар3	**среднее за 2018 год**	вар1	вар2	вар3	**среднее 2019 за год**	
СМБ/49	76,0	72,5	78,8	75,8	76,7	78,3	74,6	76,5	75,9	74,4	76,0	75,4	**75,9**
СМБ/46	102,0	100,0	104,4	102,1	104,0	107,2	101,0	104,1	101,0	106,0	99,6	102,2	**102,8**
СМК/36	94,0	92,3	96,7	94,3	92,2	90,0	95,4	92,5	96,3	97,3	95,7	96,4	**94,4**
АК/34	72,0	73,0	71,8	72,3	73,8	75,2	71,1	73,4	71,5	72,2	71,4	71,7	**72,4**
СМК/12	84,0	78,4	87,6	83,3	84,4	82,1	87,2	84,6	82,0	81,4	84,5	82,6	**83,5**
МК/30	90,0	90,9	89,2	90,0	89,3	92,3	85,8	89,1	90,5	87,3	92,8	90,2	**89,8**
GS/33	76,0	70,4	78,9	75,1	77,7	75,0	78,8	77,2	75,4	73,0	77,0	75,1	**75,8**
АК/19	72,0	69,9	73,7	71,9	73,3	76,8	71,3	73,8	71,9	69,9	72,8	71,5	**72,4**
АК/28	92,0	94,0	90,6	92,2	94,5	98,4	91,9	94,9	91,4	90,7	93,0	91,7	**92,9**
КАБ/9	95,0	98,4	91,9	95,1	96	95,8	97,1	96,3	94,4	92,5	96,0	94,3	**95,2**
SU/4	105,0	109,8	102,7	105,8	110	112,8	108,2	110,3	103,8	100,0	107,3	103,7	**106,6**
Аврора	115,0	112,0	117,3	114,8	117,0	119,2	114,9	117,0	111,0	109,9	114,5	111,8	**114,5**
Безостая1	99,0	95,3	104,1	99,5	101,0	97,6	103,0	100,5	98,6	96,4	101,7	98,9	**99,6**
Красн.99	86,0	83,9	88,3	86,1	87,9	86,4	88,2	87,5	82,8	81,9	85,7	83,5	**85,7**

Приложение: таблица 5. Компоненты урожайности интрогрессивных линий мягкой пшеницы (2019 г.)

Линия	Масса 1000 зерен, гр.					Количество продуктивных колосьев с 1 м^2, шт.					Масса зерна с 1 м^2, гр.				
	Повт.1	Повт. 2	Повт. 3	Повт. 4	**среднее за год**	Повт.1	Повт. 2	Повт. 3	Повт. 4	**среднее за год**	Повт.1	Повт. 2	Повт. 3	Повт. 4	**среднее за год**
МБ/1	42,2	43,3	44,7	43,4	**43,4**	463	490	484	477	**479,0**	461,9	518,8	484,8	489,3	**488,7**
МБ/26	40,5	46,6	47,3	44,8	**44,8**	357	426	411	400	**398,0**	405,0	465,1	451,1	439,2	**440,4**
МК/30	32,2	34,1	34,2	33,5	**33,5**	415	391	436	416	**414,0**	365,1	401,1	369,1	380,2	**378,4**
МБ/31	44,8	47,8	46,6	46,4	**46,4**	395	371	398	390	**388,0**	351,2	394,3	383,1	375,9	**376,2**
СМБ/10	36,7	40,1	38,2	39,6	**38,7**	401	398	378	405	**395,5**	461,5	440,2	478,1	501,2	**470,3**
СМБ/12	48,9	46,8	47,3	47,7	**47,7**	342	391	377	372	**370,0**	411,0	458,0	451	438,4	**440,0**
СМБ/29	42,2	42,3	40,2	43,6	**42,1**	375	356	398	401	**382,5**	434,8	445,6	454,2	490,1	**456,2**
СМБ/46	44,7	40,1	39,9	42,8	**41,9**	420	401	378	422	**405,3**	410,1	440,0	467,1	401,0	**429,6**
СМК/4	39,8	44,2	45,1	42,4	**42,9**	356	324	345	356	**345,3**	478,2	480,2	431,1	470,0	**464,9**
СМК/25	41,3	39,3	37,6	40,8	**39,8**	367	370	390	367	**373,5**	367,2	320,0	377,1	382,3	**361,7**
СМК/26	42,0	42,8	39,3	43,2	**41,8**	420	403	443	378	**411,0**	437,9	450,3	489,2	502	**469,9**
СМК/30	43,1	44,1	46,1	43,9	**44,3**	425	430	444	421	**430,0**	456,2	415,0	389,9	465,2	**431,6**
СМК/36	39,2	44,4	40,9	41,5	**41,5**	476	496	471	479	**481,0**	473,7	507,1	491,3	484,7	**490,7**
АА/2	44,3	40,9	42,3	44,1	**42,9**	348	340	379	390	**364,3**	398,3	401,2	376,2	407,4	**395,8**
АА/5	45,1	44,8	46,7	45,0	**45,4**	400	389	439	445	**418,3**	410,3	448,2	456,1	403,2	**429,5**
АА/6	43,9	47,4	45,8	45,7	**45,7**	317	368	305	333	**330,0**	390,0	409,0	402,5	397,8	**400,5**
АА/19	41,8	43,2	38,4	41,3	**41,2**	389	367	400	418	**393,5**	426,1	457,3	440,0	452,8	**444,1**
АА/21	42,6	39,2	40,5	42,7	**41,3**	417	439	448	440	**436,0**	389,1	400,4	352,1	409,3	**387,7**
АА/35	40,4	37,7	39,4	41,1	**39,7**	403	398	401	378	**395,0**	402,6	437,9	440,2	431,1	**428,0**
АА/36	41,8	43,8	42,5	42,7	**42,7**	421	414	440	425	**425,0**	399,1	439,5	413,3	417,5	**417,3**
АБ/11	44,8	48,5	44,1	45,8	**45,8**	473	545	536	516	**518,0**	355,0	407,0	387,0	381,9	**383,0**

Продолжении таблицы 5

Линия, Сорт	Масса 1000 зерен, гр.					Количество продуктивных колосьев с 1 м^2, шт.					Масса зерна с 1 м^2, гр.				
	Повт.1	Повт. 2	Повт. 3	Повт. 4	**среднее за год**	Повт.1	Повт. 2	Повт. 3	Повт. 4	**среднее за год**	Повт.1	Повт. 2	Повт. 3	Повт. 4	**среднее за год**
АК/5	37,8	40,2	42,4	43,6	**41,00**	387	401	367	410	**391,25**	364,3	325,3	354,5	370,4	**353,63**
АК/19	41,3	43,6	40,1	39,9	**41,23**	401	420	440	432	**423,25**	397,3	401,1	420,2	392,2	**402,70**
АК/34	41,8	44,6	47,4	45,2	**44,75**	354	378	398	402	**383,00**	342,8	379,2	401,3	345,2	**367,13**
GS.1	47,8	49,47	46,14	47,8	**47,80**	328	366	326	338	**340**	453	503	460	470,8	**472,0**
GS/6	46,1	45,7	41,3	44	**44,28**	431	456	469	453	**452,25**	467,2	479,2	502,1	456,7	**476,30**
GS/10	44,8	43,2	45,8	40,3	**43,53**	410	401	389	420	**405,00**	415,4	401,2	378,8	409,3	**401,18**
GS/19	43,3	41,2	40,1	39,4	**41,00**	402	378	428	385	**398,25**	451,2	470,3	497,7	440,2	**464,85**
GS/20	44	46,3	45,8	43,8	**44,98**	396	404	426	445	**417,75**	410,6	380,1	416,2	405,1	**403,00**
GS/24	44,62	45,9	46,87	45,8	**45,80**	370	463	421	417	**418**	458	490	453	465,3	**467,0**
GS/33	45,2	46,5	45,2	46,7	**45,90**	438	456	460	451	**451,25**	425,1	456,9	417,6	447	**436,65**
SM/2	39,7	42	40,7	43,2	**41,40**	340	356	330	318	**336,00**	327,8	335,2	318,2	363,1	**336,08**
SU/11	43,6	44,8	39,8	44,8	**43,25**	380	410	439	404	**408,25**	468,2	502,5	451	467,3	**472,25**
SU/14	44,2	40,4	43,1	42	**42,43**	420	448	431	457	**439,00**	423,8	475,1	426,2	453,8	**444,73**
SU/15	46,3	45,7	45,6	43,2	**45,20**	407	387	403	427	**406,00**	478,5	490,4	500,1	478,2	**486,80**
SU/16	47,1	46,1	47,1	44	**46,08**	390	409	420	438	**414,25**	465,3	470,2	480,2	430,3	**461,50**
SU/19	45,3	46,33	47,28	46,3	**46,30**	368	409	405	392	**394**	318,63	354,34	361,13	349,8	**344,7**
SU/20	39,7	48,78	48,31	46,7	**45,60**	384	408	432	406	**408**	344,28	373	347,42	353,8	**354,9**
Безостая 1	43,17	44,33	42,7	43,5	**43,40**	356	404	374	379	**378**	391,8	438	401,39	407,6	**410,4**
Аврора	44,6	41,8	44,71	43,8	**43,70**	382	400	400	392	**394**	401,72	430,5	414,87	415,9	**415,7**
Краснод. 9	40,91	44	42	42,7	**42,30**	413	460	432	434	**435**	411,44	458,88	442,18	440,2	**437,5**
$НСР_{0,05}$					**1,5**					**49**					**48,6**

Приложение: таблица 6. Оценка интрогрессивных линий и контрольных сортов мягкой пшеницы по признаку «содержание белка» за 2017-2019 гг.

Год	2017					2018					2019				
Линия, Сорт	вар1	вар2	вар3	вар4	**среднее за год**	вар1	вар2	вар3	вар4	**среднее за год**	вар1	вар2	вар3	вар4	**среднее за год**
МБ/1	14,70	14,10	14,90	15,2	14,73	15,1	14,3	15,5	15,2	15,03	15,3	16,0	15,2	15,2	15,43
МБ/26	15,90	16,1	15,60	16,1	15,93	15,70	15,10	15,30	16,1	15,55	16,0	16,4	15,3	16,1	15,95
МБ/30	14,90	14,10	14,80	14,4	14,55	14,40	13,90	14,70	14,4	14,35	15,20	14,90	15,30	14,4	14,95
МБ/32	15,30	15,50	14,80	15,7	15,33	14,10	13,50	14,30	14,6	14,13	15,40	14,70	15,70	14,6	15,10
СМБ/10	15,10	15,20	14,80	15,3	15,10	14,10	12,60	14,70	14	13,85	15,40	15,70	15,10	14,7	15,23
СМБ/12	16,40	16,10	16,70	15,9	16,28	16,60	17,10	16,20	15,9	16,45	16,10	16,50	15,90	15,9	16,10
СМБ/29	15,80	15,30	16,10	15,7	15,73	16,70	15,70	17,10	15,7	16,30	16,10	15,40	16,30	15,7	15,88
СМБ/46	14,40	14,70	14,20	15,1	14,60	13,20	12,10	13,80	13,2	13,08	14,80	13,80	15,50	13,8	14,48
СМК/4	14,60	14,20	14,80	14,3	14,48	14,40	13,50	14,60	14,3	14,20	15,10	14,50	15,60	14,3	14,88
СМК/25	14,70	14,30	15,10	14,9	14,75	14,90	14,30	15,00	14,9	14,78	15,20	14,30	15,70	14,9	15,03
СМК/26	14,90	15,00	14,80	13,8	14,63	16,10	15,80	16,40	15,8	16,03	14,80	13,30	15,20	15,8	14,78
СМК/30	14,30	13,90	14,50	14,6	14,33	13,90	14,00	14,10	14,6	14,15	14,80	13,20	15,00	14,6	14,40
СМК/36	16,30	16,00	16,50	16,3	16,28	15,80	16,10	15,40	16,3	15,90	16,70	17,20	16,70	16,3	16,73
АА/2	16,40	17,20	16,30	16,9	16,70	15,20	14,30	15,70	15,1	15,08	16,10	15,40	16,50	15,8	15,95
АА/5	17,50	18,10	17,20	17,4	17,55	16,1	17,0	16,7	17,4	16,80	17,3	18,0	17,1	17,4	17,45
АА/6	17,60	17,20	18,30	17,9	17,75	15,60	13,6	16,4	16,9	15,63	16,2	15,4	16,7	16,9	16,30
АА/19	15,00	13,90	15,30	15,2	14,85	14,1	13,4	14,5	15,2	14,30	13,7	13,3	14,2	15,2	14,10
АА/21	13,90	13,70	14,10	14,4	14,03	13,2	12,90	13,5	14,4	13,50	13,7	14,3	13,1	14,4	13,88
АА/35	16,20	15,90	16,40	15,70	16,05	16,00	15,50	16,30	15,70	15,88	15,8	16,20	15,70	15,70	15,85
АА/36	16,30	17,20	16,00	16,7	16,55	16,40	17,00	16,10	16,7	16,55	16,1	16,40	16,8	16,9	16,60
АБ/11	17,80	18,20	17,10	17,5	17,65	16,1	15,7	16,8	17,5	16,53	17,5	17,1	17,8	17,5	17,48

Продолжении таблицы 6

Линия, Сорт	вар1	вар2	вар3	вар4	**среднее за год**	вар1	вар2	вар3	вар4	**среднее за год**	вар1	вар2	вар3	вар4	**среднее за год**
АК/5	13,90	13,20	14,10	13,4	13,65	12,8	13,1	12,5	13,4	12,95	13,7	14,3	13,6	13,4	13,75
АК/19	16,30	15,80	16,50	16,1	16,18	15,7	15,0	16,1	16,1	15,73	16,10	16,3	15,9	16,1	16,10
АК/34	16,40	15,80	16,70	16,3	16,30	16,40	15,90	16,20	16,8	16,30	16,70	17,10	17,20	16,4	16,85
GS/1	14,00	13,80	14,30	13,7	13,95	13,40	13,00	13,50	13,7	13,40	14,7	14,20	15,10	13,7	14,43
GS/6	16,80	17,20	17,10	17	17,03	17,1	17,0	16,8	17	16,98	17,0	17,0	16,8	17	16,95
GS/10	15,20	14,30	15,70	15,3	15,13	15,6	15,2	15,6	15,3	15,43	15,7	16,3	15,8	15,3	15,78
GS/19	16,50	15,90	16,70	16,2	16,33	15,30	15,10	15,40	15,9	15,43	15,60	15,10	15,80	15,9	15,60
GS/20	15,70	15,70	15,30	16,1	15,70	14,90	14,1	15,2	14,7	14,73	15,20	16,2	15,1	14,7	15,30
GS/24	15,80	16,30	15,40	15,8	15,83	16,10	16,4	16,25	15,85	16,13	16,30	17,0	16,2	15,8	16,33
GS/33	14,50	13,80	14,70	14,5	14,38	13,40	13,10	13,20	14,5	13,55	14,7	15,00	14,30	14,5	14,63
SM/2	13,80	14,10	13,40	13,8	13,78	14,00	14,20	13,90	13,8	13,98	13,40	13,60	13,20	13,8	13,50
SU/11	16,30	15,50	16,80	16,3	16,23	15,2	15,6	14,9	16,3	15,50	16,1	15,5	16,3	16,3	16,05
SU/14	16,10	15,90	16,30	16,1	16,10	16,30	16,10	16,40	16,1	16,23	16,90	17,10	15,90	16,7	16,70
SU/15	17,30	17,10	17,60	17,6	17,40	17,50	16,7	17,4	17,6	17,30	17,7	18,2	17,7	17,6	17,80
SU/16	17,70	18,10	17,40	17,7	17,73	17,40	18,10	17,00	17,7	17,55	17,2	16,9	17,5	17,7	17,33
SU/19	17,40	17,10	18,00	17	17,38	16,4	15,9	16,6	16,5	16,35	17,5	17,0	17,7	16,5	17,18
SU/20	14,30	14,10	14,20	13,9	14,13	14,20	15,20	13,80	13,9	14,28	14,8	14,2	15,3	13,9	14,55
Авродес	22,60	23,00	22,10	22,8	22,63	25,40	26,10	24,70	22,8	24,75	24,70	25,20	24,50	23,6	24,50
Ростислав	15,90	15,50	16,00	15,9	15,83	16,70	16,2	17,0	15,9	16,45	16,2	16,8	16,1	15,9	16,25
Безостая 1	15,10	14,60	15,70	14,8	15,05	15,30	14,40	15,90	14,8	15,10	15,40	13,80	15,80	14,8	14,95
Гром	14,00	13,20	14,80	13,9	13,98	13,40	13,00	14,20	13,9	13,63	14,7	14,20	15,10	13,9	14,48
Сила	15,80	16,20	14,90	15,6	15,63	15,20	15,10	15,50	15,3	15,28	16,00	15,80	16,10	15,3	15,80
НСР $_{05}$					0,54					0,75					0,73

Приложение: таблица 7. Оценка интрогрессивных линий и контрольных сортов мягкой пшеницы по признаку содержания сырой клейковины за 2017-2019 гг.

Линия, Сорт	вар1	вар2	вар3	вар4	**среднее за год**	вар1	вар2	вар3	вар4	**среднее за год**	вар1	вар2	вар3	вар4	**среднее за год**
МБ.1	35,2	32,5	30,1	32,8	32,7	28,9	31,3	32,4	32,8	31,4	27,9	29,8	32,5	30,8	30,3
МБ/26	32,3	29,4	34,1	30,9	31,7	32,7	34,3	33,7	29,3	32,5	30,0	31,3	32,50	34,2	32,0
МБ/30	23,8	25,7	26,0	24,8	25,1	30,90	31,0	31,6	30,2	30,9	25,2	29,7	32,10	31,0	29,5
МБ/32	25,4	28,2	28,9	26,3	27,2	34,10	34,1	34,5	34,2	34,2	30,2	29,3	28,90	30,2	29,7
СМБ/10	25,4	29,5	31,3	30,0	29,1	34,30	34,1	34,3	32,0	33,7	26,7	29,3	31,30	30,9	29,6
СМБ/12	33,8	32,3	27,6	32,2	31,5	33,90	35,7	37,7	32,2	34,9	35,6	34,1	32,30	34,6	34,2
СМБ/29	37,2	37,6	36,7	36,7	37,1	40,30	40,3	39,2	38,3	39,5	41,1	39,1	38,90	38,3	39,3
СМБ/46	29,2	27,8	25,3	25,9	27,1	29,30	32,2	33,9	27,8	30,8	28,9	30,1	32,10	28,6	29,9
СМК/4	26,8	26,4	26,0	25,9	26,3	31,30	30,9	31,8	27,9	30,5	28,1	30,2	31,80	28,1	29,6
СМК/25	29,4	30,2	31,4	29,1	30,0	32,60	31,7	31,2	30,0	31,4	33,5	32,0	30,10	33,3	32,2
СМК/26	31,7	30,1	26,9	28,6	29,3	28,70	31,0	33,4	30,1	30,8	34,5	33,1	32,60	31,7	33,0
СМК/30	34,2	30,8	27,2	31,2	30,9	31,10	34,7	36,7	31,2	33,4	32,0	32,8	33,30	32,8	32,7
СМК/36	38,2	38,9	37,4	37,3	38,0	38,90	40,0	41,2	38,9	39,8	37,0	36,5	35,00	35,8	36,1
АА/2	32,2	27,6	25,1	27,5	28,1	31,20	33,2	34,3	30,3	32,3	27,80	30,7	30,90	29,3	29,7
АА/5	37,1	37,0	35,3	35,3	36,2	39,8	39,5	40,2	37,2	39,2	39,4	38,7	37,5	35,4	37,8
АА/6	32,7	32,4	30,3	30,6	31,5	36,1	35,7	35,1	34,0	35,2	33,8	34,1	35,2	31,9	33,8
АА/19	33,6	30,0	25,7	28,9	29,6	28,3	29,8	33,1	28,9	30,0	28,6	31,2	33,5	28,9	30,6
АА/21	28,8	30,0	27,4	30,1	29,1	29,9	30,2	31,3	30,1	30,4	26,7	28,2	28,9	30,1	28,5
АА/35	26,7	28,5	29,4	29,1	28,4	32,30	33,2	29,8	29,1	31,1	28,3	31,0	34,70	29,4	30,9
АА/36	34,2	31,8	31,2	30,0	31,8	35,5	34,8	33,4	31,4	33,8	32,2	33,3	33,70	31,4	32,7
АБ/11	40,3	40,1	41,5	39,7	40,4	40,9	41,8	42,3	39,7	41,2	42,8	42,2	41,5	38,8	41,3

Продолжении таблицы 7

Год	2017					2018					2019				
Линия, Сорт	вар1	вар2	вар3	вар4	**среднее за год**	вар1	вар2	вар3	вар4	**среднее за год**	вар1	вар2	вар3	вар4	**среднее за год**
АК/5	30,10	26,00	22,70	27,20	26,50	29,2	30,1	31,5	28,10	29,73	26,00	28,4	29,2	28,10	27,93
АК/19	38,40	37,00	37,40	36,50	37,33	41,2	41,3	42,0	38,30	40,70	41,2	39,8	37,80	38,90	39,43
АК/34	40,20	37,50	41,00	29,30	37,00	41,40	39,50	38,90	37,30	39,28	38,10	36,50	32,20	34,20	35,25
GS/1	21,40	23,50	25,90	24,10	23,73	28,4	27,20	26,30	25,20	26,78	26,90	25,90	25,10	24,70	25,65
GS/6	34,50	34,00	33,70	33,20	33,85	36,0	35,3	35,2	33,20	34,93	35,9	36,6	37,5	34,20	36,05
GS/10	23,20	26,90	27,50	25,10	25,68	30,7	33,2	34,2	34,40	33,13	32,0	31,2	30,00	29,40	30,65
GS/19	32,30	29,70	31,80	32,00	31,45	34,2	35,20	37,2	31,20	34,45	35,3	34,70	32,7	32,80	33,88
GS/20	30,60	33,60	34,20	31,20	32,40	37,10	35,60	34,80	31,80	34,83	32,40	32,30	34,10	35,20	33,50
GS/24	33,10	31,90	31,10	31,60	31,93	36,2	36,1	37,3	34,50	36,03	35,4	36,20	37,0	35,20	35,95
GS/33	21,90	22,80	25,30	21,50	22,88	28,3	27,20	28,50	27,80	27,95	26,30	25,90	24,90	24,10	25,30
SM/2	25,80	26,00	24,10	24,70	25,15	25,10	25,90	26,20	24,70	25,48	22,30	24,40	28,30	23,80	24,70
SU/11	32,90	33,00	30,20	31,20	31,83	35,3	34,7	32,7	32,10	33,70	30,2	31,9	33,2	32,10	31,85
SU/14	23,90	28,00	33,50	32,10	29,38	30,5	32,2	33,4	30,60	31,68	31,40	30,80	32,00	33,40	31,90
SU/15	30,10	35,60	37,90	33,40	34,25	36,9	38,1	37,2	33,40	36,40	40,2	37,70	35,3	33,80	36,75
SU/16	33,30	35,90	36,90	35,10	35,30	38,9	38,4	39,6	35,10	38,00	34,20	36,30	37,50	35,10	35,78
SU/19	38,70	38,80	36,40	36,80	37,68	40,0	39,1	39,1	37,20	38,85	35,80	35,90	36,7	37,20	36,40
SU/20	27,10	29,80	30,90	28,70	29,13	33,7	34,1	34,4	29,70	32,98	28,40	27,60	25,60	29,70	27,83
avrodes	44,30	42,10	40,40	42,00	42,20	55,40	56,50	51,20	49,30	53,10	59,10	52,30	47,40	50,70	52,38
Ростислав	29,70	27,50	23,80	26,10	26,78	30,8	33,6	34,2	28,90	31,88	28,9	30,80	32,0	29,10	30,20
Безостая 1	31,80	30,20	28,30	29,30	29,90	35,70	33,20	36,20	31,00	34,03	28,70	29,00	29,90	31,00	29,65
Гром	24,70	23,50	27,80	24,10	25,03	25,3	27,20	28,70	26,20	26,85	24,60	25,90	26,90	26,20	25,90
Сила	32,30	32,30	34,60	32,90	33,03	34,40	35,20	35,30	34,10	34,75	31,80	34,20	35,40	34,10	33,88
НСР $_{05}$					2,86					1,83					2,44

Приложение: таблица 8. Цитологическая характеристика линий *T. miguchovae* / *T. aestivum*, Авродес / *T. aestivum*, RS1 / *T. aestivum* и RS7 / *T. aestivum*, сортов Безостая1, Аврора и Краснодарская 99

Нзвние линии	№ растения	Число хромосом	Ассоциация хромосом в MI мейоза, число клеток				
			Число просмотренных клеток	21^{II}	$20^{II}+2^{I}$	$>2^{I}$	Мультиваленты
МБ/1	1	42	68	64	2	-	2
	2	42	53	49	3	-	1
	3	42	45	43	2	-	-
МБ/3	1	42	52	50	2	-	-
	2	42	64	61	3	-	-
	3	42	64	61	2	1	-
МБ/6	1	42	65	63	2		-
	2	42	58	54	2	-	-
	3	42	62	58	4	-	-
МБ/26	1	42	68	64	4	-	-
	2	42	58	53	5	-	-
	3	42	60	58	2	-	-
МБ/27	1	42	52	47	4	-	1
	2	42	59	53	5	-	1
	3	42	61	54	6		1
МБ/28	1	42	56	52	4	-	-
	2	42	48	46	2	-	-
	3	42	53	49	4	-	-
МБ/29	1	42	68	62	6		
	2	42	57	54	3	-	-
	3	42	55	51	4		
МБ/30	1	42	49	48	1		
	2	42	63	59	4	-	-
	3	42	52	46	6	-	-
МК/17	1	42	67	62	5	-	-
	2	42	60	57	3	-	-
	3	42	65	62	3	-	-
МК/27	1	42	56	49	5	-	2
	2	42	52	43	7	-	2
	3	42	60	53	6	-	1
МК/35	1	42	66	61	5		
	2	42	63	59	4	-	-
	3	42	57	53	4	-	-
МК/36	1	42	58	54	4	-	-
	2	42	64	62	2	-	-
	3	42	52	49	3	-	-

Продолжении таблицы 8

Нзвние линии	№ растения	Число хромосом	Ассоциация хромосом в MI мейоза, число клеток				
			Число просмотренных клеток	21^{II}	$20^{II}+2^{I}$	$>2^{I}$	Мультиваленты
МК/37	1	42	57	54	3	-	-
		2	42	62	58	4	-
	3	42	54	51	3	-	-
МК/38	1	42	55	52	2	-	-
	2	42	61	59	2	-	-
	3	42	62	59	3	-	-
МК/39	1	42	54	52	2	-	-
	2	42	57	53	4	-	
	3	42	63	59	4	-	-
МК/40	1	42	65	62	3	-	-
	2	42	54	50	4	-	-
	3	42	53	50	3	-	-
МК/41	1	42	56	53	3	-	-
	2	42	53	50	3	-	-
	3	42	58	54	4	-	-
Безостая 1	1	42	51	48	2	1	-
	2	42	56	53	2	-	1
	3	42	54	51	2	1	-
АА/5	1	42	53	50	2	-	1
	2	42	61	63	2	-	2
	3	42	64	60	4	-	-
АА/6	1	42	58	55	2	-	1
	2	42	64	59	3	-	2
	3	42	51	48	2	-	1
АА/17	1	42	63	59	4	-	-
	2	42	62	59	2	-	1
	3	42	57	54	3		-
АА/18	1	42	52	48	3	-	1
	2	42	64	61	3	-	1
	3	42	68	65	2	-	1
АА/19	1	42	72	67	3	-	2
	2	42	65	63	2	-	-
	3	42	57	55	2	-	-
АА/20	1	42	47	43	3	-	1
	2	42	65	61	3	-	1
	3	42	55	51	4	-	-

Продолжении таблицы 8

Назвние линии	№ растения	Число хромосом	Ассоциация хромосом в MI мейоза, число клеток				
			Число просмотренных клеток	21^{II}	$20^{II}+2^{I}$	$>2^{I}$	Мультиваленты
АБ/2	1	42	69	64	4	-	1
	2	42	58	50	6	-	1
	3	42	61	58	3	-	-
АБ/11	1	42	65	62	2	-	1
	2	42	69	65	3	-	1
	3	42	56	52	2	-	2
АБ/23	1	42	71	68	3	-	-
	2	42	53	49	3	-	1
	3	42	53	49	4	-	-
АК/11	1	42	56	48	6	-	2
	2	42	59	55	4	-	-
	3	42	68	65	3	-	1
АК/18	1	42	57	54	3	-	-
	2	42	48	45	3	-	-
	3	42	54	50	3	-	1
АК/19	1	42	62	57	4	-	1
	2	42	58	54	3	-	1
	3	42	52	48	4	-	-
АК/31	1	42	67	63	2	-	2
	2	42	56	52	4	-	-
	3	42	51	48	2	-	1
АК/33	1	42	65	62	2	-	1
	2	42	65	63	2	-	-
	3	42	53	49	3	-	1
АК/34	1	42	57	55	5		2
	2	42	54	49	4	-	1
	3	42	63	59	4	-	-
АК/35	1	42	58	55	3		-
	2	42	52	48	2	-	1
	3	42	68	65	3	-	-
Аврора	1	42	54	49	3	-	2
	2	42	58	56	2	-	-
	3	42	56	51	3	-	2
GS.1	1	42	67	63	4	-	-
	2	42	55	52	3	-	-
	3	42	57	55	2	-	-

Продолжении таблицы 8

Назвние линии	№ растения	Число хромосом	Ассоциация хромосом в MI мейоза, число клеток				
			Число просмотренных клеток	21^{II}	$20^{II}+2^{I}$	$>2^{I}$	Мультиваленты
GS/14	1	42	65	61	3	-	1
	2	42	75	71	4	-	-
	3	42	53	49	4	-	-
GS/15	1	42	55	51	4	-	-
	2	42	62	58	3	-	1
	3	42	72	67	5		
GS/16	1	42	62	58	4		
	2	42	49	46	3		
	3	42	57	54	3		
GS/19	1	42	64	58	6	-	-
	2	42	52	48	4		
	3	42	61	57	4	-	-
GS/20	1	42	66	62	4		
	2	42	69	64	5	-	-
	3	42	57	53	4	-	-
GS/24	1	42	67	63	4		
	2	42	55	51	3	-	1
	3	42	58	53	5		
GS/29	1	42	57	54	2	-	1
	2	42	64	60	3		1
	3	42	68	64	4		
GS/31	1	42	63	60	3	-	-
	2	42	72	68	4	-	-
	3	42	68	64	4	-	-
GS/32	1	42	65	59	6		
	2	42	67	62	4	-	1
	3	42	71	66	5		
GS/33	1	42	54	50	4		
	2	42	64	59	5	-	-
	3	42	53	49	4	-	-
Кр.99	1	42	54	49	3	2	-
	2	42	58	51	5	2	-
SU/8	1	42	77	72	3	-	1
	2	42	65	62	3	-	-
	3	42	54	51	3	-	-
SU/10	1	42	62	58	3	-	1
	2	42	73	70	3	-	-
	3	42	56	51	5	-	-

Продолжении таблицы 8

Назвние линии	№ растения	Число хромосом	Ассоциация хромосом в MI мейоза, число клеток				
			Число просмотренных клеток	21^{II}	$20^{II}+2^{I}$	$>2^{I}$	Мультиваленты
SU/11	1	42	55	51	4	-	-
	2	42	72	68	4	-	-
	3	42	65	62	3	-	-
SU/12	1	42	52	48	4		
	2	42	59	55	3	-	1
	3	42	58	54	4		
SU/13	1	42	62	58	4	-	-
	2	42	57	53	3	-	1
	3	42	67	63	4	-	-
SU/14	1	42	65	62	3		
	2	42	79	75	4	-	-
	3	42	55	50	4	-	1
SU/15	1	42	64	60	3	-	1
	2	42	55	51	3	-	1
	3	42	63	59	4	-	-
SU/16	1	42	50	45	5	-	
	2	42	54	50	3	-	1
	3	42	58	54	4		
SU/18	1	42	65	60	5	-	-
	2	42	70	65	4	-	1
	3	42	65	61	4	-	-
SU/20	1	42	68	65	3		
	2	42	62	57	4	-	1
	3	42	61	56	4		1
Краснодарская 99	1	42	52	47	4	-	1
	2	42	61	57	4	-	-
	3	42	65	62	3	-	-

Приложение: таблица 9 Анализ мейоза в MI МКП у гибридов F_1, полученных от скрещивания линий *T. miguchovae / T. aestivum* с сортом Краснодарская 99

Комбинация скрещивания	Обазец	Изучено клеток, шт.	21^{II}, (%)	$20^{II}+2^{I}$, (%)	Клетки с унивалентами, отличными от 2^{I} (%)	Клетки с мультивален-тами, (%)
МБ/1× Кр.99	1	64	25	33	2	4
	2	53	24	24	2	3
	3	48	21	24	1	2
МБ/3× Кр.99	1	53	20	26	2	5
	2	58	24	28	2	4
	3	57	23	29	2	3
МБ/6× Кр.99	1	59	17	36	2	4
	2	52	14	33	1	4
	3	58	19	32	2	5
МБ/26× Кр.99	1	58	32	22	1	3
	2	52	28	22	-	2
	3	54	30	19	2	3
МБ/27× Кр.99	1	57	35	17	2	3
	2	50	34	18	1	3
	3	50	36	12	-	2
МБ/28× Кр.99	1	53	21	26	2	4
	2	50	14	32	2	2
	3	55	19	28	3	5
МБ/29× Кр.99	1	52	31	14	2	5
	2	52	32	16	1	3
	3	56	34	15	2	5
МК/17× Кр.99	1	53	27	20	1	4
	2	55	27	23	-	5
	3	56	26	24	2	4
МБ/30× Кр.99	1	57	40	13	1	3
	2	52	42	7	1	2
	3	59	44	10	1	4
МК/35× Кр.99	1	55	43	8	1	3
	2	58	37	15	1	5
	3	54	37	14	1	2
МК/36× Кр.99	1	53	27	21	1	4
	2	50	30	17	1	2
	3	55	31	21	1	2
МК/37× Кр.99	1	57	27	25	1	4
	2	50	16	31	-	3
	3	54	17	30	2	5
МК/38× Кр.99	1	53	24	12	2	5
	2	52	27	9	2	4

Продолжении таблицы 9

Комбинация скрещивания	Обазец	Изучено клеток, шт.	21^{II}, (%)	$20^{II}+2^{I}$, (%)	Клетки с унивалентами, отличными от 2^{I} (%)	Клетки с мультивален-тами, (%)
	3	49	27	7	1	4
МК/39× Кр.99	1	52	40	9	1	2
	2	58	41	12	1	4
	3	52	41	6	1	4
МК/40× Кр.99	1	58	37	11	2	6
	2	52	29	7	2	4
	3	54	42	5	1	6
МК/41× Кр.99	1	52	40	8	-	4
	2	50	38	9	-	3
	3	51	42	5	-	4

Приложение: таблица 10 Анализ мейоза в MI МКП у гибридов F_1, полученных от скрещивания стабильных линий Авродес / *T. aestivum* с сортом Краснодарская 99

Комбинация скрещивания	Образец	Изучено клеток	21^{II}, (%)	$20^{II}+2^{I}$, (%)	Клетки с унивалентами, отличными от 2^{I}, (%)	Клетки с мультивалентами, (%)
АА/5× Кр.99	1	53	32	18	-	3
	2	50	28	19	-	3
	3	44	31	13	-	-
АА.6× Кр.99	1	50	19	27	1	3
	2	52	17	29	2	4
	3	49	20	27	-	2
АА/17× Кр.99	1	51	39	8	-	4
	2	51	40	7	-	4
	3	52	40	9	-	3
АА/18× Кр.99	1	54	39	10	1	4
	2	53	38	12	-	3
	3	57	38	14	1	4
АА/19× Кр.99	1	51	34	12	1	4
	2	52	31	15	2	4
	3	51	37	13	-	1
АА/20× Кр.99	1	53	16	31	3	3
	2	50	20	25	1	4
	3	49	16	29	2	2
АБ/2× Кр.99	1	50	29	18	-	3
	2	50	32	16	-	2
	3	53	29	20	-	4

Продолжении таблицы 10

Комбинация скрещивания	Образец	Изучено клеток	21^{II}, (%)	$20^{II}+2^{I}$, (%)	Клетки с унивалентами, отличными от 2^{I}, (%)	Клетки с мультивалентами, (%)
АБ/11× Кр.99	1	54	36	15		3
	2	56	33	18		5
	3	58	37	17		4
АБ/23× Кр.99	1	55	33	8	-	4
	2	56	31	11	-	4
	3	54	33	9	-	2
АК/11× Кр.99	1	51	33	13	1	4
	2	51	30	15	1	5
	3	50	36	10	1	3
АК/18× Кр.99	1	55	32	18	1	4
	2	51	32	16	-	3
	3	58	33	20	2	3
АК/19× Кр.99	1	54	33	17	1	3
	2	50	37	12	-	1
	3	61	36	17	2	6
АК/31× Кр.99	1	53	17	30	2	4
	2	57	18	34	2	3
	3	54	19	31	1	3
АК/33× Кр.99	1	54	38	9	3	4
	2	50	38	7	1	4
	3	58	32	10	1	5
АК/34× Кр.99	1	49	44	4	-	1
	2	54	45	7	1	1
	3	53	45	5	2	1
АК/35× Кр.99	1	56	32	18	2	4
	2	52	33	15	2	2
	3	57	34	18	1	4

Приложение: таблица 11 Анализ мейоза в MI МКП у гибридов F_1, полученных от скрещивания цитологически стабильных линий RS1/*T. aestivum* с сортом Краснодарская 99

Комбинация скрещивания	Образец	Изучено клеток	21^{II}, (%)	$20^{II}+2^{I}$, (%)	Клетки с унивалентами, отличными от 2^{I}, (%)	Клетки с мультивалентами, (%)
GS/1× Кр.99	1	51	29	17	2	3
	2	51	26	20	3	2
	3	50	27	18	1	4
GS/14× Кр.99	1	51	12	37	2	-
	2	52	15	36	1	-
	3	51	13	35	3	-
GS/15× Кр.99	1	53	30	17	2	4
	2	50	33	15	-	2
	3	53	32	15	1	5
GS/16× Кр.99	1	54	18	34	2	-
	2	60	19	38	3	-
	3	53	15	36	2	-
GS/19× Кр.99	1	62	4	54	4	-
	2	54	3	57	4	-
	3	52	6	55	1	-
GS/20× Кр.99	1	50	37	12	-	1
	2	52	34	15	-	3
	3	55	34	17	-	4
GS/24× Кр.99	1	52	20	29	-	3
	2	57	23	28	-	4
	3	53	22	27	-	4
GS/29× Кр.99	1	51	29	20		2
	2	53	25	24		4
	3	49	24	22		3
GS/31× Кр.99	1	54	26	24	1	3
	2	54	20	26	3	5
	3	60	26	29	1	4
GS/32× Кр.99	1	52	41	11	-	-
	2	55	40	13	-	2
	3	53	41	11	-	1
GS/33× Кр.99	1	53	38	10	1	4
	2	60	38	15	2	5
	3	55	40	12	-	3

Приложение: таблица 12 Анализ мейоза в метафазе I в материнских клетках пыльцы у гибридов F1, полученных от скрещивания цитологически стабильных линий RS7 × *T. aestivum* с сортом Краснодарская 99

Комбинация скрещивания	Образец	Изучено клеток	21^{II}, (%)	$20^{II}+2^{I}$, (%)	Клетки с унивалентами, отличными от 2^{I}, (%)	Клетки с мультивалентами, (%)
SU/8 × Кр.99*	1	62	56	4	2	
	2	50	46	3	1	
	3	56	48	6	2	
SU/10 × Кр.99	1	51	30	21	-	-
	2	50	27	23	-	-
	3	48	29	19	-	-
	4	56	29	26	-	1
SU/11 × Кр.99	1	58	41	15	2	
	2	53	35	18	-	
	3	59	44	14	1	
	4	56	31	22	3	
SU/12 × Кр.99	1	58	43	15	-	-
	2	63	42	21	-	-
	3	57	38	19	-	-
SU/13 × Кр.99	1	42	38	4	-	-
	2	41	39	2	-	-
	3	45	41	3	1	-
SU/14 × Кр.99	1	68	29	32	7	-
	2	62	29	25	8	-
	3	65	36	28	11	-
	4	61	33	23	5	-
SU/15 × Кр.99	1	75	57	13	4	1
	2	73	61	9	2	1
	3	77	60	12	4	1
	4	80	65	10	3	2
SU/16 × Кр.99	1	60	49	6	3	2
	2	58	48	6	2	1
	3	63	49	8	4	2
	4	67	53	7	5	2
SU/18 × Кр.99	1	81	55	16	8	2
	2	83	56	19	7	1
	3	85	57	17	9	2
	4	85	57	15	10	3
SU/20 × Кр.99	1	74	33	32	8	1
	2	85	41	31	11	2
	3	76	37	28	10	1
	4	77	34	32	9	2

ФГБУ "ГОСУДАРСТВЕННАЯ КОМИССИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ПО ИСПЫТАНИЮ И ОХРАНЕ СЕЛЕКЦИОННЫХ ДОСТИЖЕНИЙ"

107996, г.Москва, Орликов пер., 1/11
Тел.: +7(495) 604-83-70,+7(495)411-83-66; E-mail: gsk@gossortrf.ru

УВЕДОМЛЕНИЕ О ПРИЕМЕ ЗАЯВКИ

Кому : ФГБНУ 'НАЦИОНАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ЗЕРНА ИМЕНИ П.П. ЛУКЬЯНЕНКО'
Адрес : 350012, Г.КРАСНОДАР, П/О 12

Культура **Пшеница мягкая озимая**
Сорт / Гибрид **ВЫЗОВ**

Ваша заявка на допуск к использованию прошла процедуру предварительной экспертизы.

Заявке присвоен № **82239 / 7953974** Дата регистрации **05.11.2020**
Год начала испытаний 2021 Дата приоритета **05.11.2020**

Решение по Вашей заявке будет принято после:

- оценки на хозяйственную полезность по ДАННЫМ ГОСУДАРСТВЕННЫХ ИСПЫТАНИЙ в регионах РФ (семена должны быть высланы по разнарядке ФГБУ "Госсорткомиссия" на сортоучастки заявленных регионов)
- оценки на ООС по результатам испытаний на ГСУ. В указанные в разнарядке пункты выслать необходимое количество семян (посадочного материала) с отметкой "идентификация" :
- иммунологических испытаний. В указанные в разнарядке пункты выслать необходимое количество семян (посадочного материала) с отметкой "фитоиспытания":
- отправки семян для коллекции ВИР и ФГБУ "Госсорткомиссия" с отметкой "ВИР"

"9" 03 2021

НАЧАЛЬНИК ОТДЕЛА РЕГИСТРАЦИИ И ГОСРЕЕСТРОВ О.М. ПЕРЦУХОВА

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РФ
(МИНОБРНАУКИ РОССИИ)

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ЗЕРНА ИМЕНИ П.П. ЛУКЬЯНЕНКО»
(ФГБНУ «НЦЗ ИМ. П.П. ЛУКЬЯНЕНКО»)
350012, г. Краснодар, п/о 12,
Центральная усадьба КНИИСХ
(861) 222-69-15, (861) 222-69-72,
kniish@kniish.ru

12.10.2020г. № 02-13/1889
на № _____ от _____

ВЫПИСКА
из протокола заседания
Учёного совета центра
06.10.2020 г. **№ 7** **г. Краснодар**

Присутствовали: 17 членов Учёного совета из 22 по списку.

СЛУШАЛИ: О передаче на Государственное сортоиспытание сорта пшеницы мягкой (двуручка) **ВЫЗОВ.**
Докладчик: заведующая отделом селекции и семеноводства пшеницы и тритикале, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, академик РАН Беспалова Людмила Андреевна

РЕШИЛИ: Передать на Государственное сортоиспытание сорт пшеницы мягкой (двуручка) **ВЫЗОВ.**
Считать оригинатором: ФГБНУ «НЦЗ им. П.П. Лукьяненко» - 100% со следующим авторским коллективом:

1. Беспалова Людмила Андреевна – 10%
2. Филобок Вера Алексеевна - 30%
3. Гуенкова Елена Анатольевна - 25%
4. Агаев Рахман Агарза-Оглы - 5%
5. Лысак Николай Иванович – 5%
6. Кудряшов Игорь Николаевич - 5%
7. Худокормова Жанна Николаевна - 5%
8. Букреева Галина Ивановна - 5%
9. Васильева Анна Михайловна - 5%
10. Давоян Эдвард Румикович - 5%

Председатель Учёного совета, д.с.-х.н. А.А. Романенко
Учёный секретарь, к.с.-х.н. О.Ф. Колесникова

Верно: Учёный секретарь, к.с.-х.н. О.Ф. Колесникова

ФГБУ "ГОСУДАРСТВЕННАЯ КОМИССИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ПО ИСПЫТАНИЮ И ОХРАНЕ СЕЛЕКЦИОННЫХ ДОСТИЖЕНИЙ"

107996, г.Москва, Орликов пер., 1/11
Тел.: +7(495) 604-83-70,+7(495)411-83-66; E-mail: gsk@gossortrf.ru

УВЕДОМЛЕНИЕ О ПРИЕМЕ ЗАЯВКИ

Кому : ФГБНУ 'НАЦИОНАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ЗЕРНА ИМЕНИ П.П. ЛУКЬЯНЕНКО'
Адрес : 350012, Г.КРАСНОДАР, П/О 12

Культура **Пшеница мягкая яровая**
Сорт / Гибрид **ДАНКО**

Ваша заявка на допуск к использованию прошла процедуру предварительной экспертизы.

Заявке присвоен № **82235 / 7953972** Дата регистрации **05.11.2020**
Год начала испытаний 2021 Дата приоритета **05.11.2020**

Решение по Вашей заявке будет принято после:

- оценки на хозяйственную полезность по ДАННЫМ ГОСУДАРСТВЕННЫХ ИСПЫТАНИЙ в регионах РФ (семена должны быть высланы по разнарядке ФГБУ "Госсорткомиссия" на сортоучастки заявленных регионов)
- оценки на ООС по результатам испытаний на ГСУ. В указанные в разнарядке пункты выслать необходимое количество семян (посадочного материала) с отметкой "идентификация" :
- иммунологических испытаний. В указанные в разнарядке пункты выслать необходимое количество семян (посадочного материала) с отметкой "фитоиспытания":
- отправки семян для коллекции ВИР и ФГБУ "Госсорткомиссия" с отметкой "ВИР"

"9" 03 2021

НАЧАЛЬНИК ОТДЕЛА РЕГИСТРАЦИИ И ГОСРЕЕСТРОВ О.М. ПЕРЦУХОВА

s:\zapusk\zajvka\R013_02_noposh.qrp

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РФ
(МИНОБРНАУКИ РОССИИ)

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ЗЕРНА ИМЕНИ П.П. ЛУКЬЯНЕНКО»
(ФГБНУ «НЦЗ ИМ. П.П. ЛУКЬЯНЕНКО»)
350012, г. Краснодар, п/о 12,
Центральная усадьба КНИИСХ
(861) 222-69-15, (861) 222-69-72,
kniish@kniish.ru

12.10.2020г. № 02-13/1891
на № _____ от _____

ВЫПИСКА
из протокола заседания
Учёного совета центра
06.10.2020 г. **№ 7** **г. Краснодар**

Присутствовали: 17 членов Учёного совета из 22 по списку.

СЛУШАЛИ: О передаче на Государственное сортоиспытание сорта пшеницы мягкой яровой **ДАНКО.**
Докладчик: заведующая отделом селекции и семеноводства пшеницы и тритикале, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, академик РАН Беспалова Людмила Андреевна

РЕШИЛИ: Передать на Государственное сортоиспытание сорт пшеницы мягкой яровой **ДАНКО.**
Считать оригинатором: ФГБНУ «НЦЗ им. П.П. Лукьяненко» - 100% со следующим авторским коллективом:

1. Беспалова Людмила Андреевна – 10%
2. Филобок Вера Алексеевна - 30%
3. Гуенкова Елена Анатольевна - 25%
4. Грицай Татьяна Ильинична - 5%
5. Новиков Алексей Владимирович – 5%
6. Тархов Александр Сергеевич - 5%
7. Пономарёв Дмитрий Александрович - 5%
8. Домченко Миланья Ивановна - 5%
9. Новикова Светлана Валерьевна - 5%
10. Давоян Эдвард Румикович - 5%

Председатель Учёного совета, д.с.-х.н. Л.А. Романенко
Учёный секретарь, к.с.-х.н. О.Ф. Колесникова

Верно: Учёный секретарь, к.с.-х.н. О.Ф. Колесникова

ФГБУ "ГОСУДАРСТВЕННАЯ КОМИССИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ПО ИСПЫТАНИЮ И ОХРАНЕ СЕЛЕКЦИОННЫХ ДОСТИЖЕНИЙ"

107996, г.Москва, Орликов пер., 1/11
Тел.:+7(495) 604-83-70,+7(495)411-83-66; E-mail: gsk@gossortrf.ru

УВЕДОМЛЕНИЕ О ПРИЕМЕ ЗАЯВКИ

Кому : ФГБНУ 'НАЦИОНАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ЗЕРНА ИМЕНИ П.П. ЛУКЬЯНЕНКО'
Адрес : 350012, Г.КРАСНОДАР, П/О 12

Культура **Пшеница мягкая яровая**
Сорт / Гибрид **КУЛИЧ**

Ваша заявка на выдачу патента прошла процедуру предварительной экспертизы.

Заявке присвоен № **82238 / 7953973** Дата регистрации **05.11.2020**
Год начала испытаний 2021 Дата приоритета **05.11.2020**

Решение по Вашей заявке будет принято после:

В установленные сроки Вам необходимо оплатить соответствующие госпошлины и выслать копии платежных поручений в отдел Регистрации Госкомиссии. Размер пошлин указан в рублях:

		руб.
4	Экспертиза селекционного достижения на новизну	330
5	Испытание селекционного достижения на отличимость, однородность и стабильность	5280

Пошлины принимаются на прилагаемый счет.

Платеж производится отдельно по каждому заявленному селекционному достижению В платежном поручении необходимо указать код госпошлины в соответствии с положением о патентных госпошлинах на селекционные достижения, культуру и название сорта (гибрида), за который производится платеж.

"15" 12. 2020

НАЧАЛЬНИК ОТДЕЛА РЕГИСТРАЦИИ И ГОСРЕЕСТРОВ О.М. ПЕРЦУХОВА

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РФ
(МИНОБРНАУКИ РОССИИ)

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ЗЕРНА ИМЕНИ П.П. ЛУКЬЯНЕНКО»
(ФГБНУ «НЦЗ ИМ. П.П. ЛУКЬЯНЕНКО»)
350012, г. Краснодар, п/о 12,
Центральная усадьба КНИИСХ
(861) 222-69-15, (861) 222-69-72,
kniish@kniish.ru

12.10.2020 г. № 02-13/1892
на № _____ от _____

ВЫПИСКА
из протокола заседания
Учёного совета центра
06.10.2020 г. **№ 7** **г. Краснодар**

Присутствовали: 17 членов Учёного совета из 22 по списку.

СЛУШАЛИ: О передаче на Государственное сортоиспытание сорта пшеницы мягкой яровой **КУЛИЧ.**
Докладчик: заведующая отделом селекции и семеноводства пшеницы и тритикале, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, академик РАН Беспалова Людмила Андреевна

РЕШИЛИ: Передать на Государственное сортоиспытание сорт пшеницы мягкой яровой **КУЛИЧ.**
Считать оригинатором: ФГБНУ «НЦЗ им. П.П. Лукьяненко» - 100% со следующим авторским коллективом:

1. Беспалова Людмила Андреевна – 10%
2. Филобок Вера Алексеевна - 30%
3. Гуенкова Елена Анатольевна - 25%
4. Грицай Татьяна Ильинична - 5%
5. Кузилова Наталья Михайловна – 5%
6. Левченко Юрий Григорьевич - 5%
7. Пономарёв Дмитрий Александрович - 5%
8. Мельникова Елена Евгеньевна - 5%
9. Ефременкова Вера Ивановна - 5%
10. Давоян Эдвард Румикович - 5%

Председатель Учёного совета, д.с.-х.н. А.А. Романенко
Учёный секретарь, к.с.-х.н. О.Ф. Колесникова

Верно: Учёный секретарь, к.с.-х.н. О.Ф. Колесникова