

Перевод на английский язык <https://vavilov.elpub.ru/jour>

Использование синтетической формы RS5 для получения новых интрогрессивных линий мягкой пшеницы

Р.О. Давоян¹✉, И.В. Бебякина¹, Э.Р. Давоян¹, Ю.С. Зубанова¹, Д.М. Болдаков¹, Д.С. Миков¹, В.А. Бибишев¹, А.Н. Зинченко¹, Е.Д. Бадаева²

¹ Национальный центр зерна им. П.П. Лукьяненко, Краснодар, Россия

² Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, Россия

✉ davoyanro@mail.ru

Аннотация. Актуальной задачей селекции мягкой пшеницы является вовлечение генофонда диких сородичей, обладающих значительным запасом генетического разнообразия. Эффективный метод передачи ценного генетического материала от диких сородичей в культурную пшеницу – создание и использование в качестве «мостиков» синтетических форм. С этой целью в Национальном центре зерна им. П.П. Лукьяненко созданы геномно-замещенные, геномно-добавленные и рекомбинантные «вторичные» синтетические формы. Синтетическая форма RS5 (BBAASD⁵), у которой третий геном состоит из хромосом *Aegilops speltoides* (S) и *Aegilops tauschii* (D⁵), была получена от скрещивания синтетических форм Авродес (BBAASS) и M.it./*Ae. tauschii* (BBAAD⁵D⁵), у которой геном D от *Ae. tauschii* был добавлен к геномам BBAA твердой пшеницы Mutico italicum. От беккроссов с восприимчивыми к листовой ржавчине, желтой ржавчине и мучнистой росе сортами мягкой пшеницы Краснодарская 99, Ростислав и Жировка были получены устойчивые к этим болезням интрогрессивные линии. Отобраны 12 линий, которые наряду с устойчивостью к болезням имеют высокие технологические характеристики зерна и муки. Цитологический анализ (C-banding) выявил хромосомные перестройки у шести из восьми исследуемых линий. Перестройки в основном затронули хромосомы генома D – 1D, 3D, 4D, 6D и 7D. Установлено, что генетический материал от синтетической формы RS5 в изученных линиях в большинстве случаев представлен в виде замещенных хромосом от *Ae. tauschii*. В линии 5791p17 обнаружено замещение хромосом 6D от *Ae. tauschii* и 7D от *Ae. speltoides*. Хромосомные замещения 4D(4D⁵), 6D(6D⁵) от *Ae. tauschii* и 7D(7S) от *Ae. speltoides* получены впервые. Молекулярный анализ 12 линий не выявил у них эффективных генов устойчивости к листовой ржавчине, предположительно присутствующих в синтетических формах M.it./*Ae. tauschii* и Авродес. Сделано предположение, что линии могут нести не идентифицированные ранее гены устойчивости к грибным болезням, в частности к листовой ржавчине, от видов *Ae. tauschii* и *Ae. speltoides*.

Ключевые слова: мягкая пшеница; синтетические формы; устойчивость к болезням; белок; клейковина; цитологический анализ; C-banding; замещенные хромосомы; транслокации.

Для цитирования: Давоян Р.О., Бебякина И.В., Давоян Э.Р., Зубанова Ю.С., Болдаков Д.М., Миков Д.С., Бибишев В.А., Зинченко А.Н., Бадаева Е.Д. Использование синтетической формы RS5 для получения новых интрогрессивных линий мягкой пшеницы. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2021;25(7):770-777. DOI 10.18699/VJ21.088

Using the synthetic form RS5 to obtain new introgressive lines of common wheat

R.O. Davoyan¹✉, I.V. Bebyakina¹, E.R. Davoyan¹, Y.S. Zubanova¹, D.M. Boldakov¹, D.S. Mikov¹, V.A. Bibishev¹, A.N. Zinchenko¹, E.D. Badaeva²

¹ National Center of Grain named after P.P. Lukyanenko, Krasnodar, Russia

² Vavilov Institute of General Genetics of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

✉ davoyanro@mail.ru

Abstract. The use of the gene pool of wild relatives, which have a significant reserve of genetic diversity, is of immediate interest for breeding common wheat. The creation and use of synthetic forms as “bridges” is an effective method of transferring valuable genetic material from wild relatives to cultivated wheat. For this purpose, genome addition, genome substitution and recombinant “secondary” synthetic forms have been created in the P.P. Lukyanenko National Center of Grain. The synthetic recombination form RS5 (BBAASD⁵), in which the third genome consists of chromosomes of *Aegilops speltoides* (S) and *Aegilops tauschii* (D⁵), was obtained from crossing the synthetic forms Avrodes (BBAASS) and M.it./*Ae. tauschii* (BBAAD⁵D⁵), in which the D genome from *Ae. tauschii* was added to the BBAA genomes of the durum wheat cultivar Mutico italicum. Introgression lines resistant to leaf rust, yellow rust and powdery mildew have been obtained from backcrosses with the susceptible common wheat cultivars Krasnodarskaya 99, Rostislav and Zhirovka. Twelve resistant lines that additionally have high technological characteristics of grain and flour have been selected. The cytological study (C-banding) has revealed chromosomal modifications in 6 of 8 lines under study. The rearrangements mainly affected the chromosomes of the D genome, 1D, 3D, 4D, 6D and 7D. It was found that in most cases the genetic material from the synthetic form RS5 in the studied lines was represented by substituted chromosomes from *Ae. tauschii*. In line 5791p17, the

substitution of chromosomes 6D from *Ae. tauschii* and 7D from *Ae. speltooides* was revealed. Substitutions 4D(4D⁵), 6D(6D⁵) from *Ae. tauschii* and 7D(7S) from *Ae. speltooides* were obtained for the first time. Molecular analysis of 12 lines did not reveal effective leaf rust resistance genes, presumably present in synthetic forms of M.it./*Ae. tauschii* and Avrodes. It is assumed that the lines may carry previously unidentified genes for fungal disease resistance, in particular for resistance to leaf rust, from *Ae. tauschii* and *Ae. speltooides*.

Key words: common wheat; synthetic forms; disease resistance; protein; gluten; cytological analysis; C-banding; substituted chromosomes; translocations.

For citation: Davoyan R.O., Bebyakina I.V., Davoyan E.R., Zubanova Y.S., Boldakov D.M., Mikov D.S., Bibishev V.A., Zinchenko A.N., Badaeva E.D. Using the synthetic form RS5 to obtain new introgressive lines of common wheat. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektii* = *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2021;25(7):770-777. DOI 10.18699/VJ21.088

Введение

Мягкая пшеница (*Triticum aestivum* L.) относится к числу главных продовольственных культур. Постоянно растущая потребность в повышении ее продуктивности на фоне глобальных климатических изменений требует дальнейшей интенсификации селекционного процесса. Одним из основных условий для этого является наличие достаточного генетического разнообразия и, в особенности, генов устойчивости к болезням. Актуальный и эффективный способ расширения генетического разнообразия мягкой пшеницы – использование в качестве источников селекционно ценных признаков ее многочисленных родственных диких и культурных видов (Rasheed et al., 2018). Следует отметить, что почти все эффективные гены устойчивости к болезням мягкой пшеницы происходят из генофонда ее диких сородичей (McIntosh et al., 2015).

Использование синтетических форм признано эффективным методом передачи ценного генетического материала от диких сородичей мягкой пшенице. В Национальном центре зерна им. П.П. Лукьяненко был разработан оригинальный подход, позволивший создать геномно-замещенные, геномно-добавленные и рекомбинантные «вторичные» синтетические формы (Жиров, Терновская, 1984; Давоян Р.О. и др., 2012). С помощью геномно-замещенной формы Авродес (BBAASS) были выведены рекомбинантные синтетические формы (RS-формы), у которых на фоне геномов ВА третий геном рекомбинантный и состоит одновременно из геномов двух разных дикорастущих видов (Давоян Э.Р. и др., 2012). Эта форма, ввиду наличия у нее генома S от *Ae. speltooides*, обладает способностью стимулировать гомеологичную конъюгацию хромосом (Tsatsenko et al., 1993), что должно было способствовать получению новых транслокаций и рекомбинаций между хромосомами различных видов.

Целью исследования было создание новых интрогрессивных линий мягкой пшеницы на основе синтетической формы RS5 (BBAASD⁵), у которой третий геном состоит из хромосом *Aegilops speltooides* (S) и *Ae. tauschii* (D⁵). Приведены результаты цитологического и молекулярного анализа, оценки по устойчивости к грибным болезням, компонентам продуктивности, технологическим качествам зерна и муки интрогрессивных линий мягкой пшеницы, полученных с использованием данной синтетической формы.

Материалы и методы

Материалом для исследования служили интрогрессивные линии мягкой пшеницы (BC₂F₆-BC₃F₅), производные от синтетической формы RS5. В качестве сортов-реципиен-

тов использовали восприимчивые к листовой ржавчине, желтой ржавчине и мучнистой росе сорта мягкой пшеницы: Краснодарская 99 (линии 4942п17, 5038п17, 5658п19, 5714п18, 5766п19, 5791п17, 5845п18), Ростислав (линии 5001п17, 5656п19) и Жировка (линии 5725п18, 5733п19, 5785п18). Сорт Жировка имеет транслокацию 5BS.5BL-5GL, переданную от вида *T. militinae* через синтетическую форму *T. miguschovae*. У сорта Ростислав выявлена ржавая транслокация 1RS.1BL.

Изучение характера конъюгации хромосом в метафазе I мейоза проводилось в материнских клетках пыльцы на давленных препаратах, окрашенных уксуснокислым гематоксилином по общепринятой методике (Паушева, 1974). Количество изученных клеток у линий колебалось от 169 до 248 штук.

Устойчивость к листовой и желтой ржавчинам оценивали на стадии взрослых растений в полевых условиях, на фоне искусственного заражения. Для оценки устойчивости к желтой ржавчине применяли шкалу Гасснера и Штрайба (Gasner, Straib, 1934). Резистентность к листовой ржавчине определяли по шкале Майнса и Джексона (Mains, Jackson, 1926). Растения с типом реакции 0 (иммунные), 1 (высокоустойчивые) и 2 (умеренно устойчивые) относили к устойчивым. Устойчивость растений с промежуточным типом реакции, от 0 до 1 (единичные очень мелкие пустулы с некрозом), обозначали баллом 01. Растения с типом реакции 3–4 считались восприимчивыми. Устойчивость к мучнистой росе оценивалась на естественном инфекционном фоне по шкале Гешеле (Пересыпкин, 1979). К устойчивым относили растения со степенью поражения мучнистой росой 0–20 %.

Выделение ДНК проводили по методу Плашке с коллегами (Plaschke et al., 1995). Для идентификации генов *Lr* применяли праймеры, маркирующие гены *Lr28*, *Lr35*, *Lr39* и *Lr51*, – CS421570-R, CS421570-L; BCD260F1, 35R2; GDM35-L, GDM35-R и S30-13L, AGA7-759R соответственно (Seyfarth et al., 1999; Singh et al., 2004; Cherkuri et al., 2005; Helguera et al., 2005). Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) выполняли согласно условиям, рекомендуемым авторами. Электрофорез фрагментов ПЦР проводили аналогично ранее описанной методике (Давоян Э.Р. и др., 2018).

Дифференциальное окрашивание хромосом (C-banding) выполнялось в Институте общей генетики им. Н.И. Вавилова согласно методике, разработанной Бадаевой с коллегами (Badaeva et al., 1994).

Технологические качества зерна и муки изучали в отделе технологии и биохимии зерна Национального центра

зерна им. П.П. Лукьяненко по методикам Государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур (1988). Статистическую обработку полученных результатов проводили в программе AGROS-2.10.

Результаты

Синтетическая форма RS5 проявляла высокую устойчивость к листовой и желтой ржавчине и умеренную устойчивость к мучнистой росе, при этом имела очень низкую фертильность. Для передачи устойчивости и восстановления фертильности форму RS5 скрещивали с восприимчивыми к этим болезням сортами мягкой пшеницы Краснодарская 99, Ростислав и Жировка. Первое поколение гибридных растений было частично фертильным и тоже проявляло устойчивость к комплексу болезней пшеницы. В зависимости от уровня фертильности растений проводили беккроссирование мягкой пшеницей от одного до трех раз, но в большинстве случаев для ее восстановления было достаточно двух беккроссов. Полученные от беккроссов растения имели от 40 до 42 хромосом. Результаты цитологического изучения хромосомных ассоциаций в метафазе I мейоза приведены в табл. 1.

В целом доля растений с мультивалентами не различалась по комбинациям скрещивания. На рис. 1 представлена конъюгация хромосом в метафазе I мейоза у гибридных растений.

У растений F₁, полученных от скрещивания рекомбинантной формы RS5 с мягкой пшеницей, наблюдалось большое количество мультивалентов (75 %), что объясняется непосредственным влиянием хромосом генома S, входящих в состав рекомбинантной стерильной формы, на конъюгацию хромосом различных геномов. Далее по мере увеличения числа беккроссов, которые проводились также с целью преодоления низкой фертильности гибридных растений F₁, количество растений с мультивалентами существенно уменьшается (до 9 %). Отбор растений по фертильности и устойчивости к болезням, самоопыление способствовали стабилизации мейоза и закреплению нужных признаков. В результате отбора растений по числу хромосом, близкому мягкой пшенице (42), из популяции гибридных растений на основе синтетика RS5 в настоящее время получено 82 линии. В данной статье представлены результаты изучения 12 линий, наиболее близких по фенотипу к сортам-реципиентам.

Основной целью при использовании формы RS5 была передача устойчивости к болезням мягкой пшеницы. В этой связи линии оценивались по устойчивости к наиболее распространенным и вредоносным болезням – листовой ржавчине (*Puccinia triticina* Eriks.), желтой ржавчине (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) и мучнистой росе (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*). Характеристика интрогрессивных линий RS5 × *T. aestivum* по устойчивости к болезням за 2019–2021 гг. приведена в табл. 2.

Устойчивостью к листовой ржавчине обладали 11 линий. Высокую резистентность с типом реакции 01 и 1 проявили 8 линий: 4942п17, 5656п19, 5733п19, 5766п19, 5714п18, 5725п18, 5785п18 и 5845п18. Линия 5001п17 была восприимчива. Остальные линии имели умеренную устойчивость.

Таблица 1. Результаты изучения конъюгации хромосом в метафазе I мейоза поколения F₁ и BC₁F₁–BC₃F₁

Поколение	Изученные растения	
	Всего, шт.	В том числе с мультивалентами, шт.(%)
F ₁	12	9 (75)*
BC ₁ F ₁	31	16 (52)
BC ₁ F ₂ –BC ₂ F ₁	45	12 (27)
BC ₂ F ₂ –BC ₃ F ₁	80	7 (9)

* От общего числа растений, %.

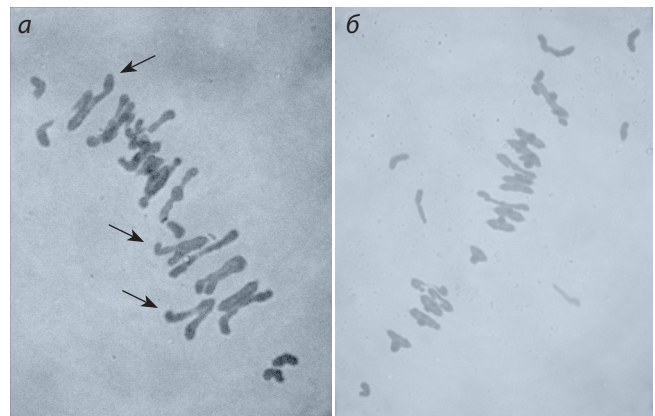


Рис. 1. Конъюгация хромосом в метафазе I мейоза у гибридных растений RS5 × Краснодарская 99: а – BC₁ (14^{II} + 4^I + 2^{III} + 1^{IV}); б – BC₂ (19^{II} + 4^I). Стрелками обозначены мультиваленты.

Таблица 2. Характеристика интрогрессивных линий RS5 × *T. aestivum* по устойчивости к комплексу болезней пшеницы (2019–2021 гг.)

Линия, сорт, синтетик	Устойчивость		
	к листовой ржавчине, тип реакции	к желтой ржавчине, тип реакции	к мучнистой росе, %
4942п17	1	2	15
5001п17	3	2	20
5038п17	2	2	25
5656п19	01	01	20
5658п19	2	2	15
5733п19	1	2	20
5766п19	1	2	15
5714п18	01	2	20
5725п18	1	1	20
5785п18	1	2	25
5791п17	2	01	15
5845п18	01	1	10
Краснодарская 99	4	3	25
Ростислав	4	4	30
Жировка	3	3	30
RS5	01	01	15

Таблица 3. Анализ мейоза в метафазе I в материнских клетках пыльцы у гибридов F₁, полученных от скрещивания цитологически стабильных линий RS5 × *T. aestivum* с сортом Краснодарская 99

Растительный материал	Изучено клеток	21 ^{II}	20 ^{II} +2 ^I	19 ^{II} +4 ^I	Клетки с мультивалентами
		%			
4942п17×K99*	214	77.4	16.6	4.7	1.3
5001п17×K99	185	80.7	10.3	6.4	2.6
5038п17×K99	190	67.4	32.6	–	–
5656п19×K99	237	80.5	15.4	3.3	1.8
5658п19×K99	248	65.4	30.4	4.2	–
5714п18×K99	185	48.7	38.4	10.7	2.2
5725п18×K99	210	56.2	29.5	12.4	1.9
5733п19×K99	317	68.6	19.2	9.8	2.4
5766п19×K99	262	67.2	23.7	8.4	1.7
5785п18×K99	247	77.4	12.8	7.5	2.3
5791п17×K99	169	44.7	43.1	12.2	–
5845п18×K99	223	58.3	36.8	4.9	–
Краснодарская 99	112	91.0	6.3	2.7	–

* Здесь и далее: K99 – сорт пшеницы Краснодарская 99.

Резистентность к желтой ржавчине несли все 12 линий. Четыре из них, 5656п19, 5725п18, 5791п17 и 5845п18, имеют тип реакции на заражение 01 и 1.

Устойчивость к мучнистой росе проявили 10 линий. Восприимчивыми оказались линии 5038п17 и 5785п18.

Особую ценность для селекции представляют линии, устойчивые к комплексу болезней. Три линии, 5001п17, 5038п17 и 5785п18, имели групповую устойчивость к двум болезням и девять линий – к трем болезням. Высокой резистентностью ко всем трем болезням обладала линия 5845п18. Разнообразие линий по устойчивости к болезням может свидетельствовать о различных интрогрессиях чужеродного генетического материала в геном мягкой пшеницы.

Для того чтобы выяснить природу переданного материала от синтетической формы RS5, изучаемые линии были скрещены с одним из наиболее мейотически стабильных сортов мягкой пшеницы Краснодарская 99, после чего изучен мейоз у гибридных растений F₁ (табл. 3).

Ассоциация хромосом у гибридных растений F₁ 20^{II}+2^I и 19^{II}+4^I может свидетельствовать о замещении одной или двух пар пшеничных хромосом на чужеродные. Такие замещения могут быть у 4 линий из 12 анализируемых – 5038п17, 5658п19, 5791п17 и 5845п18. У гибридов сорта Краснодарская 99 с остальными линиями установлено наличие мультивалентов, что свидетельствует о том, что они могут нести транслокации от синтетика RS5 и сортов Ростислав и Жировка. Гибридные растения линий 5714п18, 5725п18, 5733п19, 5766п19 наряду с мультивалентами формируют значительное количество клеток (около 30 %) с ассоциацией хромосом 20^{II}+2^I и 19^{II}+4^I.

Таблица 4. Результаты анализа интрогрессивных линий RS5 × *T. aestivum* методом дифференциального окрашивания хромосом (C-banding)

Линия	Выявленные транслокации и замещения
5656п19	T1BL.1RS
5658п19	2A(2A ¹); 3D(3D ¹)
5714п18	T1BL.1RS; T2AL?; del.3BS; 4D(4D ¹)
5725п18	T1BL.1RS; T5BL.5GL; 4D(4D ¹); 6D(6D ¹)
5733п19	T5BS.5BL-5GL; 1D(1D ¹); 6D(6D ¹)
5785п18	T1BL.1RS; T5BL.5GL
5791п17	6D(6D ¹); 7D(7S)
5845п18	1D(1D ¹); 6D(6D ¹)

Вероятно, в этих линиях могут присутствовать и транслокации, и замещенные хромосомы.

Для идентификации генетического материала от синтетика RS5 и изменений в геноме у полученных линий применяли метод дифференциального окрашивания хромосом (C-banding). Из восьми проанализированных линий в шести выявлены интрогрессии от синтетика RS5 (табл. 4).

Перестройки в основном затронули хромосомы генома D. В большинстве случаев линии несут замещенные хромосомы от *Ae. tauschii*. Чаще всего в перестройках участвуют хромосомы 1D, 4D и 6D (рис. 2).

В линии 5658п19 были идентифицированы замещения 2A(2A¹) и 3D(3D¹). Линия 5791п17 имеет замещение хро-

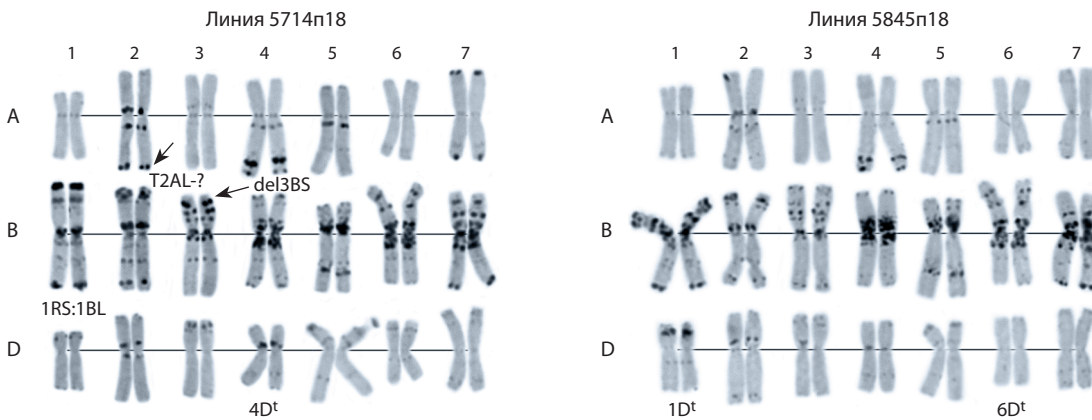


Рис. 2. Кариотипы интрогрессивных линий 5714n18 и 5845n18 с генетическим материалом рекомбинантной синтетической формы RS5.

мосом 6D от *Ae. tauschii* и 7D от *Ae. speltoides*. Следует отметить, что интрогрессивные линии с хромосомными замещениями 4D(4D^t), 6D(6D^t) от *Ae. tauschii* и 7D(7S) от *Ae. speltoides* идентифицированы впервые. В линии 5656n19 выявлена транслокация T1BL.1RS от сорта-реципиента Ростислав. В трех линиях – 5725n18, 5733n19 и 5785n18 – присутствует транслокация T5BL.5GL, полученная от сорта-реципиента Жировка. Интрогрессивные линии представляют особый интерес как возможные доноры новых генов устойчивости к болезням, в частности к листовой ржавчине, переданных от видов *Ae. tauschii* и *Ae. speltoides*. В настоящее время в каталог генных символов пшеницы внесено пять генов устойчивости от *Ae. tauschii*: *Lr21*, *Lr22a*, *Lr32*, *Lr39*, *Lr42* и шесть генов от *Ae. speltoides*: *Lr28*, *Lr35*, *Lr36*, *Lr47*, *Lr51*, *Lr66* (McIntosh et al., 2015). Для идентификации генов устойчивости к листовой ржавчине у изучаемых нами линий использовали ДНК-маркеры. Ранее нами был проведен анализ синтетических форм Авродес и M.it./*Ae. tauschii* на присутствие эффективных генов устойчивости к листовой ржавчине *Lr28*, *Lr35*, *Lr47*, *Lr51* от *Ae. speltoides* и *Lr39* от *Ae. tauschii* (Давоян Э.Р. и др., 2012, 2018). Ген устойчивости *Lr36* в анализ не был включен в связи с отсутствием эффективного молекулярного маркера к нему. Идентификацию гена *Lr66* на данном этапе не проводили. Установлено, что синтетическая форма Авродес имеет из перечисленных генов только *Lr28*, *Lr35* и *Lr51*, а синтетическая форма M.it./*Ae. tauschii* – ген *Lr39*. Исходя из этого интрогрессивные линии анализировали только на наличие у них эффективных генов устойчивости к листовой ржавчине *Lr28*, *Lr35*, *Lr39* и *Lr51*. Ни в одной из 12 линий искомые гены не обнаружены.

Для определения перспектив вовлечения выделенных интрогрессивных линий в селекционную практику мы оценивали их по технологическим качествам зерна и компонентам продуктивности. Здесь представлены результаты оценки шести фенотипически наиболее интересных линий урожая 2019 г.

Одними из наиболее важных агрономических признаков, в особенности для линий, несущих чужеродный генетический материал, являются технологические характеристики зерна и муки. Чужеродные интрогрессии

могут существенно влиять на технологические качества зерна и муки. Результаты анализа линий по некоторым технологическим показателям представлены в табл. 5. Содержание белка и клейковины у линий в значительной степени зависит от условий вегетационного периода. По этим характеристикам все исследуемые линии превышали лучший по технологическим показателям сорт-реципиент Краснодарская 99. Наивысшие показатели имели линии 5656n19 и 5725n18 – 18.6 и 17.9 % белка, 36.8 и 37.0 % клейковины соответственно. У сорта Краснодарская 99 содержание белка и клейковины составило 14.4 и 26 % (см. табл. 5).

Технологические характеристики зерна определяются не только содержанием белка и клейковины, но и качественными показателями клейковины, которые, в свою очередь, связаны с такими важными характеристиками, как объемный выход хлеба, цвет и пористость мякиша, вкусовые характеристики и т.д. Как правило, у линий, имеющих чужеродный генетический материал, наблюдается ухудшение качества клейковины. Так, все анализируемые линии имеют высокие показатели ИДК клейковины по сравнению с сортом-реципиентом Краснодарская 99. Однако у линий 5684n18 и 5733n19 качество клейковины соответствует первой группе качества по ГОСТ, а у линий 5656n19, 5658n19, 5725n18 и 5766n19 – второй группе, что считается неплохими показателями для интрогрессивных линий. Объемный выход хлеба у двух линий, 5658n19 и 5656n19, составил 820 и 950 мл соответственно, превысив объемный выход хлеба у сорта-реципиента Краснодарская 99 (800 мл). Значительные различия наблюдались между линиями по показателю общей хлебопекарной оценки. Три линии: 5658n19, 5684n18 и 5725n18 (4.5 балла) уступили по этому показателю сорту-реципиенту Краснодарская 99 (4.6 балла), а две линии: 5656n19 и 5766n19, получившие оценку 4.7 балла, незначительно превысили показатель сорта Краснодарская 99. Наилучшую хлебопекарную оценку имела линия 5733n19 – 4.8 балла.

Для изучения продуктивности применялись следующие показатели: масса 1000 зерен, масса зерна и количество колосьев с 1 м² (табл. 6). Масса 1000 зерен у линий варьировала от 38.0 г (линия 5733n19) до 43.9 г (5766n19) при

Таблица 5. Технологические характеристики зерна и муки интрогрессивных линий мягкой пшеницы RS5 × *T. aestivum*

Линия	Содержание, %		Показатель ИДК1, ед. падения	Объемный выход хлеба, мл	Общая оценка, баллов
	белка	клейковины			
5656п19	18.6	36.8	88	950	4.7
5658п19	15.8	29.3	82	820	4.5
5684п18	17.1	33.6	75	850	4.5
5725п18	17.9	37.0	81	860	4.5
5733п19	16.4	31.6	68	850	4.8
5766п19	14.9	27.9	80	860	4.7
K99	14.4	26.0	65	800	4.6
HCP ₀₅	0.3	1.4	2	19	–

Таблица 6. Компоненты урожайности интрогрессивных линий RS5 × *T. aestivum*

Линия	Масса 1000 зерен, г	Кол-во колосьев на 1 м ² , шт.	Масса зерна с 1 м ² , г
5656п19	40.3	307.7	483.5
5658п19	43.2	238.7	532.7
5684п18	42.3	223.5	486.5
5725п18	40.7	329.2	466.0
5733п19	38.0	305.8	583.5
5766п19	43.9	284.3	600.3
K99	37.4	321.7	603.7
HCP _{0.5}	0.62	16.9	16.5

среднем значении 37.4 г у сорта Краснодарская 99. Все линии, за исключением 5733п19, достоверно превышают по этому показателю сорт Краснодарская 99. Линии 5658п19, 5684п18 и 5766п19 формируют меньшее количество колосьев на 1 м² по сравнению с сортом Краснодарская 99. У остальных трех линий различия оказались несущественными. Наиболее высокую урожайность (600.3 г/м²), сравнимую с сортом Краснодарская 99 (603.7 г/м²), имела линия 5766п19. Остальные линии достоверно уступали сорту Краснодарская 99 по этому показателю.

Обсуждение

Создание синтетической формы RS5, прежде всего, было связано с возможностью передачи мягкой пшенице от *Ae. tauschii* и *Ae. speltooides* новых интрогрессий и, как следствие, новых генов устойчивости к болезням. Наряду с отбором устойчивых гибридных растений, важное значение в такой работе имеет их цитологическое изучение. Изучение конъюгации хромосом в метафазе I мейоза у гибридных растений RS5 × *T. aestivum* выявило относительно большое количество растений с мультивалентами в ранних поколениях F₁ и BC₁F₁ – 75 и 52 % соответственно. Такие результаты объясняются способностью синтетической формы Авродес, полученной с участием *Ae. speltooides*, вызывать гомеологичную конъюгацию хромосом (Tsatsenko et al., 1993). Существенное уменьшение

количества растений с мультивалентами в последующих поколениях BC₂F₁–BC₃F₁ (9 %) может быть связано со стабилизацией числа хромосом и их ассоциации в мейозе в сторону мягкой пшеницы, а также с уменьшением в них генетического материала *Ae. speltooides*.

Отобранные для изучения 12 линий RS5 × *T. aestivum* поколения BC₂F₆–BC₃F₅ различались по устойчивости к листовой и желтой ржавчине и мучнистой росе. Выявлены линии с типами реакции к листовой ржавчине 01, 1 и 2, к желтой ржавчине 01, 1 и 2, со степенью поражения мучнистой росой 10, 15 и 20 %. Линии различаются также по устойчивости к комплексу перечисленных болезней. Разнообразие линий по устойчивости к болезням может свидетельствовать о различных интрогрессиях генетического материала RS5 в геноме мягкой пшеницы и возможной передаче нового гена(ов) устойчивости.

Цитологический анализ (C-banding) выявил хромосомные перестройки у шести из восьми исследуемых линий. Перестройки в основном затронули хромосомы генома D – 1D, 3D, 4D, 6D и 7D. Установлено, что генетический материал от синтетической формы RS5 в изученных линиях в большинстве случаев представлен в виде замещенных хромосом от *Ae. tauschii*. В одной линии, 5791п17, выявлено замещение хромосом 6D от *Ae. tauschii* и 7D от *Ae. speltooides*. Следует отметить, что хромосомные замещения 4D(4D^d), 6D(6D^d) от *Ae. tauschii* и 7D(7S) от *Ae. speltooides* получены впервые. Активное участие в перестройках хромосом генома D объясняется, во-первых, тем, что *Ae. tauschii* является донором генома D, а во-вторых, что в синтетической форме Авродес (BBAASS) геном D мягкой пшеницы замещен на геном S от *Ae. speltooides*. В линии 5656п19 выявлена транслокация T1BL.1RS от сорта-реципиента Ростислав. При этом, в отличие от сорта Ростислав, линия обладает устойчивостью к листовой ржавчине (01) и желтой ржавчине (01) и высокими показателями содержания белка и клейковины (18.6 и 35.8 % соответственно). Вероятно, передача генетического материала от RS5 этой линии произошла посредством рекомбинации, которая не определяется методом C-banding. В трех линиях – 5725п18, 5733п19 и 5785п18 – выявлена транслокация T5BL.5GL, полученная от сорта-реципиента Жировка. В настоящее время эта транслокация не обеспечивает устойчивость к листовой ржавчине, желтой ржавчине и мучнистой росе.

От вида *Ae. tauschii* мягкой пшенице переданы гены устойчивости к листовой ржавчине *Lr21*, *Lr22a*, *Lr32*, *Lr39*, *Lr42*, от *Ae. speltooides* – *Lr28*, *Lr35*, *Lr36*, *Lr47*, *Lr51*, *Lr66*, *LrASP5* (Адолина и др., 2012; McIntosh et al., 2015). Эти гены были перенесены от *Ae. tauschii* в хромосомы мягкой пшеницы 1D, 2D, 3D, 2D и 1D соответственно; от *Ae. speltooides* – в 4A, 2B, 6B, 7A, 1B, 3A и 5B соответственно (Friebe et al., 1996; Helguera et al., 2000, 2005; Marais et al., 2010). Несмотря на большое число переданных генов, не исключено, что у этих видов могут присутствовать другие гены устойчивости к листовой ржавчине, о чем свидетельствуют также предыдущие результаты (Давоян и др., 2017).

На основании маркерного анализа ранее было сделано предположение, что синтетическая форма M.it/*Ae. tauschii* имеет из перечисленных генов *Lr39*, а Авродес – только *Lr28*, *Lr35* и *Lr51*. Ни в одной из 12 анализируемых линий искомые гены не установлены. Вероятно, эти линии могут иметь новые гены устойчивости к листовой ржавчине от *Ae. tauschii* и *Ae. speltooides*.

Генетический материал диких сородичей в интрогрессивных линиях мягкой пшеницы наряду с положительными признаками может нести и нежелательные, такие как удлинение вегетационного периода, ухудшение хлебопекарных качеств, склонность к полеганию, снижение урожайности и др. (Knott, 1989; Brevis et al., 2008; Тимонова и др., 2012; Леонова, Будашкина, 2016).

Изучение шести наиболее интересных по фенотипу линий выявило их разнообразие по продуктивности и технологическим характеристикам зерна и муки. Исследуемые линии превосходили сорт-реципиент Краснодарская 99 по содержанию белка и клейковины. Наивысшие показатели имели линии 5656п19 и 5725п18 – 18.6 и 17.9 % белка, 36.8 и 37.0 % клейковины соответственно. Несмотря на то что у всех анализируемых линий более высокие показатели ИДК клейковины по сравнению с сортом Краснодарская 99, они формируют клейковину, соответствующую первой и второй группе ГОСТ, и имеют либо равную с Краснодарской 99, либо более высокую общую хлебопекарную оценку. Таким образом, наряду с устойчивостью к болезням, изученные линии могут быть использованы как доноры для улучшения технологических качеств зерна и муки.

Все линии, за исключением 5733п19, достоверно превышали по массе 1000 зерен сорт Краснодарская 99. По количеству колосьев на 1 м² линии имеют равные (5656п19, 5725п18, 5733п19) или более низкие показатели (5658п19, 5684п18 и 5766п19) по сравнению с сортом Краснодарская 99. По показателю «масса зерна с 1 м²» все линии, кроме 5766п19, достоверно уступали сорту Краснодарская 99. Пониженную продуктивность линий по сравнению с Краснодарской 99 предварительно можно связать с тем, что на фоне существенно высокого содержания белка (за исключением линии 5766п19), что, как правило, отрицательно коррелирует с урожайностью, они формируют либо равное, либо значительно меньшее количество колосьев на 1 м². Отметим также, что Краснодарская 99 относится числу высокоурожайных сортов озимой мягкой пшеницы.

Заключение

Представленные результаты свидетельствуют о широком разнообразии полученных интрогрессивных линий и эффективности использования синтетической формы RS5 для передачи мягкой пшенице генетического материала от *Ae. tauschii* и *Ae. speltooides*.

Список литературы / References

- Адолина И.Г., Петраш Н.В., Тимонова Е.М., Христов Ю.А., Салина Е.А. Создание и изучение устойчивых к листовой ржавчине линий мягкой пшеницы с транслокациями от *Aegilops speltooides* Tauch. *Генетика*. 2012;48(4):488-494.
- [Adonina I.G., Petrash N.V., Timonova E.M., Khristov Y.A., Salina E.A. Construction and study of leaf rust resistant common wheat lines with translocations of *Aegilops speltooides* Tausch. *Genetic material. Russ. J. Genet.* 2012;48(4):404-409. DOI 10.1134/S1022795412020020.]
- Давоян Р.О., Бебякина И.В., Давоян О.Р., Зинченко А.Н., Давоян Э.Р., Кравченко А.М., Зубанова Ю.С. Синтетические формы как основа для сохранения и использования генофонда диких сородичей мягкой пшеницы. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2012;16(1):44-51.
- [Davoyan R.O., Bebyakina I.V., Davoyan O.R., Zinchenko A.N., Davoyan E.R., Kravchenko A.M., Zubanova Y.S. The use of synthetic forms in preservation and exploitation of the gene pool of wild common wheat relatives. *Russ. J. Genet. Appl. Res.* 2012;2(6):480-485. DOI 10.1134/S2079059712060044.]
- Давоян Р.О., Бебякина И.В., Давоян Э.Р., Миков Д.С., Бадаева Е.Д., Адолина И.Г., Салина Е.А., Зинченко А.С., Зубанова Ю.С. Использование синтетической формы Авродес для передачи устойчивости к листовой ржавчине от *Aegilops speltooides* мягкой пшенице. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2017;21(6):663-670. DOI 10.18699/VJ17.284.
- [Davoyan R.O., Bebyakina I.V., Davoyan E.R., Mikov D.S., Badaeva E.D., Adonina I.G., Salina E.A., Zinchenko A.N., Zubanova Y.S. Use of a synthetic form Avrodes for transfer of leaf rust resistance from *Aegilops speltooides* to common wheat. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2017; 21(6):663-670. DOI 10.18699/VJ17.284. (in Russian)]
- Давоян Э.Р., Давоян Р.О., Бебякина И.В., Давоян О.Р., Зубанова Ю.С., Зинченко А.Н., Кравченко А.М. Идентификация генов устойчивости к листовой ржавчине в видах *Aegilops* L., синтетических формах и интрогрессивных линиях мягкой пшеницы. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2012;16(1):116-122.
- [Davoyan E.R., Davoyan R.O., Bebyakina I.V., Davoyan O.R., Zubanova Yu.S., Kravchenko A.M., Zinchenko A.N. Identification of a leaf rust-resistance gene in species of *Aegilops* L., synthetic forms, and introgression lines of common wheat. *Russ. J. Genet. Appl. Res.* 2012;2(4):325-329. DOI 10.1134/S2079059712040041.]
- Давоян Э.Р., Миков Д.С., Зубанова Ю.С., Болдаков Д.М., Давоян Р.О., Бебякина И.В., Бибишев В.А. Изучение интрогрессивных линий мягкой пшеницы с генетическим материалом *Aegilops tauschii* по устойчивости к листовой ржавчине. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2018;22(1):97-101. DOI 10.18699/VJ18.336.
- [Davoyan E.R., Mikov D.S., Zubanova Y.S., Boldakov D.M., Davoyan R.O., Bebyakina I.V., Bibishev V.A. Study of introgressive lines of common wheat with *Aegilops tauschii* genetic material for resistance to leaf rust. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2018;22(1):97-101. DOI 10.18699/VJ18.336. (in Russian)]
- Жиров Е.Г., Терновская Т.К. Геномная инженерия у пшеницы. *Вестн. с.-х. науки*. 1984;10:58-66.
- [Zhiron E.G., Ternovskaya T.K. Genome engineering in wheat. *Vestnik Selskokhozyaystvennoy Nauki = Herald of Agricultural Science*. 1984;10:58-66. (in Russian)]

- Леонова И.Н., Будашкина Е.Б. Изучение признаков продуктивности у интрогрессивных линий *Triticum aestivum/Triticum timopheevii*, устойчивых к грибным болезням. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2016;20(3):311-319. DOI 10.18699/VJ16.120.
[Leonova I.N., Budashkina E.B. The study of agronomical traits determining the productivity of the *Triticum aestivum/Triticum timopheevii* introgression lines with resistance to fungal diseases. *Russ. J. Genet. Appl. Res.* 2017;7(3):299-307. DOI 10.1134/S2079 059717030091.]
- Методика Государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур. М., 1988.
[Methods of State Crop Variety Trial. Moscow, 1988. (in Russian)]
- Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. М.: Колос, 1974.
[Pausheva Z.P. Laboratory Manual on Plant Cytology. Moscow: Kolos Publ., 1974. (in Russian)]
- Пересыпкин В.Ф. Болезни зерновых культур. М.: Колос, 1979; 251-260.
[Peresipkin V.F. Diseases of Grain Cultures. Moscow: Kolos Publ., 1979;251-260. (in Russian)]
- Тимонова Е.М., Леонова И.Н., Белан И.А., Росеева Л.П., Салина Е.А. Влияние отдельных участков хромосом *Triticum timopheevii* на формирование устойчивости к болезням и количественные признаки мягкой пшеницы. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2012;16(1):142-159.
[Timonova E.M., Leonova I.N., Belan I.A., Rosseeva L.P., Salina E.A. The influence of particular chromosome regions of *Triticum timopheevii* on the formation of resistance to diseases and quantitative traits in common wheat. *Russ. J. Genet. Appl. Res.* 2012; 2(4):330-343.]
- Badaeva E.D., Badaev N.S., Gill B.S., Filatenko A.A. Interspecific karyotype divergence in *Triticum araraticum*. *Plant Syst. Evol.* 1994;192(1):117-145. DOI 10.1007/BF00985912.
- Brevis J.C., Chicaiza O., Khan I.A., Jackson L., Morris C.F., Dubcovsky J. Agronomic and quality evaluation of common wheat near-isogenic lines carrying the leaf rust resistance gene *Lr47*. *Crop Sci.* 2008;48:1441-1451. DOI 10.2135/cropsci2007.09.0537.
- Cherukuri D.P., Gupta S.K., Charpe A., Koul S., Prabhu K.V., Singh R.B., Haq Q.M.R. Molecular mapping of *Aegilops speltoides* derived leaf rust resistance gene *Lr28* in wheat. *Euphytica*. 2005; 143:19-26. DOI 10.1007/s10681-005-1680-6.
- Friebe B., Jiang J., Raupp W.J., McIntosh R.A., Gill B.S. Characterization of wheat-alien translocations conferring resistance to diseases and pests: current status. *Euphytica*. 1996;91:59-87. DOI 10.1007/BF00035277.
- Gasner G., Straib U.W. Weitere Untersuchungen über die Spezialisierung sverhältnissesdes Gelbrostes *Puccinia glumarum* (Schm.) Erikss. u. Henn. *Arb. Boil. Reichsanstalt.* 1934;21:121-145.
- Helguera M., Khan I.A., Dubcovsky J. Development of PCR markers for wheat leaf rust resistance gene *Lr47*. *Theor. Appl. Genet.* 2000; 100:1137-1143. DOI 10.1007/s001220051397.
- Helguera M., Vanzetti L., Soria M., Khan I.A., Kolmer J., Dubcovsky J. PCR markers for *Triticum speltoides* leaf rust resistance gene *Lr51* and their use to develop isogenic hard red spring wheat lines. *Crop Sci.* 2005;45(2):728-734. DOI 10.2135/cropsci2005.0728.
- Knott D.R. The effect of transfers of alien genes for leaf rust resistance on the agronomic and quality characteristics of wheat. *Euphytica*. 1989;44(1-2):65-72. DOI 10.1007/BF00022601.
- Mains E.B., Jakson H.S. Physiologic specialization in leaf rust of wheat, *Puccinia triticiana* Erikss. *Phytopathology*. 1926;16:89-120.
- Marais G.F., Bekker T.A., Eksteen A., Mccallum B., Fetch T., Marais A.S. Attempts to remove gametocidal genes co-transferred to common wheat with rust resistance from *Aegilops speltoides*. *Euphytica*. 2010;171(1):71-85. DOI 10.1007/s10681-009-9996-2.
- McIntosh R.A., Dubcovsky J., Rogers W.J., Morris C.F., Appels R., Xia X.C. Catalogue of Gene Symbols for Wheat: 2013–2014 Supplement. KOMUGI Integrated Wheat Science Database, 2015. Available at: <https://shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/macgene/supplement2013.pdf>
- Plaschke J., Ganai M.W., Röder M.S. Detection of genetic diversity in closely related bread wheat using microsatellite markers. *Theor. Appl. Genet.* 1995;91:1001-1007. DOI 10.1007/BF00223912.
- Rasheed A., Mujeeb-Kazi A., Ogbonnaya F.C., He Z., Rajaram S. Wheat genetic resources in the post-genomics era: promise and challenges. *Ann. Bot.* 2018;121:603-616. DOI 10.1093/aob/mcx148.
- Seyfarth R., Feuillet C., Schachermayr G., Winzeler M., Keller B. Development of molecular mapping of the adult-plant leaf rust resistance gene *Lr35* in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 1999;99:554-560. DOI 10.1007/s001220051268.
- Singh S., Franks C.D., Huang L., Brown-Guedira G.L., Marshall D.S., Gill B.S., Fritz A. *Lr41*, *Lr39* and a leaf rust resistance gene from *Aegilops cylindrica* may be allelic and are located on wheat chromosome 2DS. *Theor. Appl. Genet.* 2004;108:586-591. DOI 10.1007/s00122-003-1477-8.
- Tsatsenco L.V., Zhiron E.G., Davoyan R.O. Hybrids between wheat and genome-substituted form Avrodes. Cytogenetics and agronomy investigations. *Cereal Res. Commun.* 1993;21(1):45-50.

ORCID ID

R.O. Davoyan orcid.org/0000-0002-6771-5161

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 05.08.2021. После доработки 27.08.2021. Принята к публикации 27.08.2021.