

Использование синтетической формы Авродес для передачи устойчивости к листовой ржавчине от *Aegilops speltoides* мягкой пшенице

Р.О. Давоян¹✉, И.В. Бебякина¹, Э.Р. Давоян¹, Д.С. Миков¹, Е.Д. Бадаева², И.Г. Адонина³, Е.А. Салина³, А.С. Зинченко¹, Ю.С. Зубанова¹

¹ Краснодарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства им. П.П. Лукьяненко, Краснодар, Россия

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

³ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

Диплоидный сородич мягкой пшеницы *Aegilops speltoides* является ценным источником генов устойчивости к болезням. Для передачи от этого вида мягкой пшенице устойчивости к листовой ржавчине в качестве «мостика» была использована синтетическая форма Авродес (BBAASS). Оценка 115 *Triticum aestivum*/Авродес интрогрессивных линий выявила их различие по устойчивости к листовой ржавчине – от среднеустойчивых до высокоустойчивых. Тестирование интрогрессивных линий с помощью молекулярных маркеров показало, что отдельные линии имеют гены устойчивости *Lr28* и *Lr35*, наследуемые от синтетической формы Авродес. В то же время у большей части устойчивых линий их присутствие не было выявлено. Анализ мейотической конъюгации хромосом F₁ гибридов показал, что генетический материал от синтетической формы Авродес передается в основном посредством транслокаций. С использованием методов С-окрашивания и FISH идентифицированы линии с транслокациями на хромосомах 2D и 5D. Ни один из переданных ранее генов устойчивости от *Ae. speltoides* не имеет локализацию на хромосомах 2D и 5D. Таким образом, можно предположить передачу новых генов устойчивости к листовой ржавчине от *Ae. speltoides* мягкой пшенице. Проведено изучение интрогрессивных линий по продуктивности и технологическим характеристикам зерна. Линии AA60n9 и D37n10 сочетают высокую устойчивость к листовой ржавчине с хорошими характеристиками по продуктивности и технологическими показателями зерна. Полученные результаты свидетельствуют о генетическом разнообразии и ценности исследуемых интрогрессивных линий для селекции мягкой пшеницы на устойчивость к листовой ржавчине.

Ключевые слова: *Triticum aestivum*; *Aegilops speltoides*; интрогрессивные линии; устойчивость к листовой ржавчине; цитологический анализ; молекулярные маркеры; продуктивность и технологические качества зерна.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Давоян Р.О., Бебякина И.В., Давоян Э.Р., Миков Д.С., Бадаева Е.Д., Адонина И.Г., Салина Е.А., Зинченко А.С., Зубанова Ю.С. Использование синтетической формы Авродес для передачи устойчивости к листовой ржавчине от *Aegilops speltoides* мягкой пшенице. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(6):663-670. DOI 10.18699/VJ17.284

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Davoyan R.O., Bebyakina I.V., Davoyan E.R., Mikov D.S., Badaeva E.D., Adonina I.G., Salina E.A., Zinchenco A.N., Zubanova Y.S. Use of a synthetic form Avrodes for transfer of leaf rust resistance from *Aegilops speltoides* 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)

Received 02.02.2017

Accepted for publication 22.06.2017

© AUTHORS, 2017

✉ e-mail: davoyanro@mail.ru

Use of a synthetic form Avrodes for transfer of leaf rust resistance from *Aegilops speltoides* to common wheat

R.O. Davoyan¹✉, I.V. Bebyakina¹, E.R. Davoyan¹, D.S. Mikov¹, E.D. Badaeva², I.G. Adonina³, E.A. Salina³, A.N. Zinchenco¹, Y.S. Zubanova¹

¹ Krasnodar Lukyanenko Research Institute of Agriculture, Krasnodar, Russia

² Vavilov Institute of General Genetics RAS, Moscow, Russia

³ Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

Diploid wild relative of wheat – *Aegilops speltoides* – is a valuable source of genes for resistance to diseases. The synthetic form Avrodes (BBAASS) was used as a bridge to transfer leaf rust resistance genes from *Ae. speltoides* to common wheat. Introgression lines obtained from crosses of Avrodes and susceptible common wheat cultivars were evaluated in a field leaf rust nursery. Resistance levels varied from high to moderate. Testing of lines with the use of molecular markers has shown that some lines have the *Lr28* and *Lr35* genes inherited from synthetic form Avrodes. The majority of resistance lines have not been found to carry these genes. The *Lr47* and *Lr51* genes were not identified in the Avrodes and introgression lines. The analysis of chromosome pairing in F₁ hybrids showed that the transfer of a genetic material from Avrodes to common wheat basically occurs through translocations. Lines with translocations on chromosomes 2D and 5D were identified by C-banding and FISH. The translocations differed in chromosomal location from known leaf resistance genes transferred to common wheat from *Ae. speltoides*. Hence it was assumed that new genes were introduced into the common wheat genome from *Ae. speltoides*. Introgression lines have been studied for productivity and technological qualities of grain. Lines AA60n9 and D37n10 combine high resistance to leaf rust with good characteristics of productivity and technological qualities of grain. The received results demonstrate a genetic diversity and a value of the investigated introgression lines for breeding of common wheat.

Key words: *Triticum aestivum*; *Aegilops speltoides*; introgression lines; resistance to leaf rust; cytological analysis; molecular markers; productivity and technological qualities of grain.

В связи с постоянно растущей потребностью повышения производства одной из главных зерновых культур – мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), наряду с ростом продуктивности существенное значение имеет устойчивость возделываемых сортов к неблагоприятным абиотическим и биотическим факторам внешней среды. Генетического запаса самой мягкой пшеницы недостаточно для решения этой проблемы. К тому же он был в значительной степени обеднен вследствие широкого распространения однотипных сортов с перекрывающимися родословными. В особенности это касается генов устойчивости к болезням, ограничение разнообразия которых является одним из основных лимитирующих факторов селекции.

Значительный резерв генетического разнообразия сосредоточен в генофонде дикорастущих сородичей пшеницы. Многие из них были с успехом использованы для передачи полезных признаков в мягкую пшеницу. Так, в настоящее время большинство эффективных генов устойчивости к болезням пшеницы происходит из этого генофонда (McIntosh et al., 2005).

Листовая ржавчина (*Puccinia recondita* Rob. ex Desm. f. sp. tritici Erikss. et Henn) относится к числу самых распространенных и вредоносных болезней пшеницы. Наиболее эффективный и экономичный путь решения этой проблемы – создание устойчивых сортов. Эта работа, ориентированная на длительную устойчивость, основывается на наличии достаточного разнообразия генов устойчивости.

Большой интерес в качестве источников устойчивости к болезням представляют различные виды эгилопов и, в частности, *Aegilops speltoides* Tausch. (Мигушова, Григорьева, 1973; Manisterski et al., 1988; Kerber, Dyck, 1990; Jiang et al., 1994). Кроме того, этот вид обладает способностью подавлять активность гена(ов) *Ph* и стимулировать гомеологичную конъюгацию хромосом (Dvorak, 1972; Kimber, Athwal, 1972).

Для того чтобы облегчить передачу генетического материала от *Ae. speltoides* в мягкую пшеницу, была использована геномно-замещенная форма Авродес (ВВААСС). Эта форма проявляет устойчивость к листовой и желтой ржавчинам, мучнистой росе, а также отличается высоким содержанием белка. С ее участием к настоящему времени получен большой набор интрогрессивных линий (Давоян Р.О. и др., 2012). Предположительно, полученные линии могут нести новые гены устойчивости к листовой ржавчине, переданные от *Ae. speltoides*.

В представленной работе приведены результаты оценки интрогрессивных линий мягкой пшеницы *Triticum aestivum*/Авродес по устойчивости к листовой ржавчине, наличию у них транслокаций и известных генов устойчивости от *Ae. speltoides*, по продуктивности и технологическим характеристикам зерна.

Материалы и методы

Исходным материалом служили 115 интрогрессивных линий мягкой пшеницы (BC₄F₆–BC₂F₂₂), полученные от скрещивания синтетической формы Авродес с восприимчивыми к листовой ржавчине сортами селекции Краснодарского НИИ сельского хозяйства им. П.П. Лукьяненко (КНИИСХ). Для цитологического, молекулярного

анализов и оценки технологических качеств зерна отбирались наиболее интересные по фенотипическим признакам линии.

Изучение конъюгации хромосом в метафазе I мейоза проводилось на давленных препаратах, окрашенных уксуснокислым гематоксилином. В мейозе подсчитывали число бивалентов, унивалентов и мультивалентов.

Дифференциальное окрашивание хромосом (С-бэндинг) выполняли 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).

Флуоресцентную *in situ* гибридизацию (FISH) проводили в Институте цитологии и генетики СО РАН по ранее опубликованной методике (Salina et al., 2006) с использованием зондов pSc119.2 (Bedbrook et al., 1980) и pAs1 (Rayburn, Gill, 1986) для идентификации хромосом (Schneider et al., 2003).

Заражение и оценку по устойчивости к листовой ржавчине осуществляли во взрослой стадии в полевых условиях. Популяцию линий заражали в фазе выхода в трубку смесью уредоспор ржавчины, собранных с разных сортов пшеницы. Устойчивость определяли по международной шкале Майнса и Джексона (Mains, Jackson, 1926). К устойчивым относили растения с типом реакции 0 (иммунные), 1 (высокоустойчивые) и 2 (умеренно устойчивые). Растения с промежуточным типом реакции (от 0 до 1) обозначали «1–». К восприимчивым относили растения с типом реакции 3–4.

ДНК пшеницы выделяли из 5–7-дневных этилированных проростков по методу Плашке с соавторами (Plaschke et al., 1995). Гены *Lr* идентифицировали с использованием метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) с праймерами, маркирующими гены *Lr28* и *Lr35*. Праймеры отбирали на основании литературных данных, их нуклеотидные последовательности представлены в табл. 1.

Условия амплификации были незначительно модифицированы: для гена *Lr28* – 95 °C в течение 2 мин; 40 циклов (94 °C 1 мин, 60 °C 1 мин, 72 °C 1 мин); 72 °C 7 мин; для гена *Lr35* – 94 °C 3 мин; 30 циклов (94 °C 45 с, 59 °C 45 с, 72 °C 60 с); 72 °C 5 мин.

Продукты ПЦР разделяли с помощью электрофореза в 1.8 % агарозном геле с 0.5× буфером ТВЕ. Гели окрашивали бромистым этидием и фотографировали в ультрафиолетовом свете с помощью фотобокса Infinity 1000. В качестве маркера молекулярной массы использовали ДНК-маркер М 24 100 п. н. «СибЭнзим».

В качестве положительных контролей для определения известных генов были использованы почти изогенные линии сорта Thatcher с генами устойчивости к листовой ржавчине *Lr28* (TcLr28) и *Lr35* (TcLr35), в качестве отрицательного контроля – восприимчивый к листовой ржавчине сорт Аврора.

Технологические качества зерна изучали в отделе технологии и биохимии зерна КНИИСХ по методикам Государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур (1988).

Статистический анализ полученных результатов проводили методом дисперсионного анализа с использованием программы AGROS-2.10.

Table 1. Markers employed in the identification of *Lr* genes

Gene	Primer		Reference
	Designation	Nucleotide sequence	
<i>Lr28</i>	SCS421-F	ACAAGGTAAGTCTCCAACCA	Cherukuri et al., 2005
	SCS421-R	AGTCGACCGAGATTTTAACC	
<i>Lr35</i>	BCD260F1	GAAGTTAAAGAGGCTTTGAC	Seyfarth et al., 1999
	35R2	TTTTGAGAATCAGTCATCAC	

Результаты

Изучение интрогрессивных линий мягкой пшеницы по геномному составу и устойчивости к листовой ржавчине

Для передачи устойчивости к листовой ржавчине в качестве реципиентов использовались восприимчивые сорта мягкой пшеницы. На первом этапе это был сорт Аврора, на втором – Скифянка, Лад, на третьем – сорта Краснодарская 99, Гром.

Оценка линий выявила их различия по устойчивости к листовой ржавчине по всем комбинациям (табл. 2). Были идентифицированы высокоустойчивые линии с типом реакции растений 1– и 1; среднеустойчивые (тип реакции 2); средне- (3) и сильновосприимчивые (4). В целом из 115 линий высокую устойчивость к листовой ржавчине проявили 67 линий (см. табл. 2). Большое разнообразие линий по устойчивости к листовой ржавчине может свидетельствовать о различных интрогрессиях генетического материала *Ae. speltoides* в геном мягкой пшеницы.

Одним из основных условий применения интрогрессивных линий в качестве доноров является их цитологическая стабильность, поскольку она тесно связана с нормальным онтогенезом растений. Очень важно также, в каком виде генетический материал с необходимыми признаками от дикого вида привнесен в геном мягкой пшеницы (дополненные хромосомы, замещенные хромосомы, транслокации или рекомбинации).

Исходя из того, что анализируемые линии получены посредством беккроссов и большого числа самоопыляющихся поколений, можно с большой долей вероятности предположить, что они обладают мейотической стабильностью.

Для того чтобы выяснить природу переданного материала от синтетической формы Авродес, 38 предварительно отобранных устойчивых к листовой ржавчине цитологически стабильных линий (21^{II}) были скрещены с одним из наиболее мейотически стабильных сортов мягкой пшеницы Краснодарская 99, и изучен мейоз у гибридов F_1 . Предполагалось, что если у взятых в анализ линий генетический материал синтетиков представлен в виде целой хромосомы, то, как правило, ассоциация хромосом будет иметь вид $20^{II}+2^I$ (рис. 1, а). Если же он представлен в виде транслокации (сегмента хромосомы), то в мейозе MI можно будет наблюдать биваленты и мультиваленты (см. рис. 1, б).

В результате проведенной работы было установлено, что генетический материал от синтетической формы Авродес передается в основном посредством транслокаций (34 линии), реже – через замещение целых хромосом (табл. 3).

Table 2. The resistance to leaf rust in populations of *T. aestivum*/Avrodes lines

Recipient variety	Total	Numbers of lines with various leaf rust damage scores			
		1–	1	2	3–4
Avrora	33	13	11	7	2
Skifyanka, Lad	30	10	7	7	6
Krasnodarskaya 99, Grom	52	15	11	14	12
Total	115	38	29	28	20

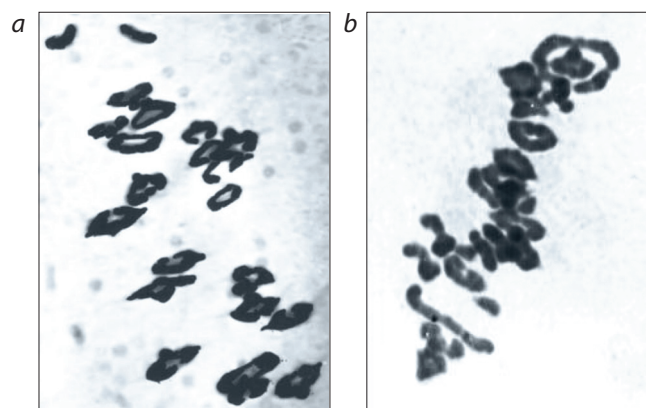


Fig. 1. Chromosome association in meiosis metaphase I in F_1 hybrids. a, $Krasnodarskaya\ 99 \times 2506n14, 20^{II}+2^I$; b, $Krasnodarskaya\ 99 \times D37n10, 19^{II}+1^{IV}$.

Чтобы определить селекционную ценность интрогрессивных линий, необходимо также наличие информации об идентификации в них чужеродного генетического материала и генов устойчивости к болезням, об оценке их по компонентам урожайности и технологическим свойствам зерна.

Для идентификации генетического материала *Ae. speltoides* в интрогрессивных линиях, использовали методы С-окрашивания и FISH. Всего в анализ было включено 17 линий, полученных с участием сорта-реципиента Аврора. Данный подход позволил выявить у пяти интрогрессивных линий чужеродные транслокации (табл. 4). В остальных линиях используемыми методами крупных транслокаций не обнаружено.

В то же время результаты исследования подтвердили предположение о различии интрогрессий генетического

Table 3. Analysis of meiotically stable (21ⁿ) *T. aestivum*/*Avrodes* lines for the presence of translocations and substitutions

Recipient variety	Number of lines		
	total	with translocations	with substituted chromosomes
Avrora	17	16	1
Skifyanka, Lad	9	9	–
Krasnodarskaya 99, Grom	12	9	3
Total	38	34	4

Table 4. *Triticum aestivum*/*Avrodes* introgression lines with identified translocations

Variety/line	Origin	Translocation
Avrora	<i>Secale cereale</i>	T1BL.1RS
989n9	<i>Ae. speltoides</i> <i>S. cereale</i>	T2D, T5D, T6DL T1BL.1RS
AA60n9	<i>Ae. speltoides</i> <i>S. cereale</i>	T2D, T5D T1BL.1RS
3193/2n5	<i>Ae. speltoides</i>	T2A, T1D, T2D, T5D
D37n10	<i>Ae. speltoides</i> <i>S. cereale</i>	T2D, T5D T1BL.1RS
M323n9	<i>T. miguschovae</i>	T5BS.5BL-5GL T6BS.6BL-5GL
	<i>Ae. speltoides</i> <i>S. cereale</i>	T2D, T5D T1BL.1RS

материала *Ae. speltoides* в полученных нами линиях. Интрогрессии затронули в основном хромосомы генома D, при этом большинство изученных линий одновременно несут транслокации на хромосомах 2D и 5D (рис. 2, см. табл. 4). Дополнительно к этим транслокациям у линии 989n9 выявлена транслокация на хромосоме 6D, у линии 3193/2n5 – на хромосомах 2A и 1D. Линия M323 вместе с транслокациями на хромосомах 2D и 5D от *Ae. speltoides* имеет также две транслокации от *Triticum miguschovae*. Вероятно, произошла спонтанная гибридизация между линиями, полученными с участием синтетических форм Авродес и *T. miguschovae*. Транслокация T1BL.1RS получена от сорта Аврора. Наличие транслокаций на хромосомах 2D (транслокация в коротком плече) и 5D (транслокация в длинном плече) от *Ae. speltoides* у линий D37n10 и M323n9 подтверждено также методом FISH (рис. 3).

Для определения генетического разнообразия полученных нами линий по устойчивости к листовой ржавчине ранее использовались фитопатологический тест, гистологический и моносомный анализы. В результате выполненных работ было выявлено, что гены устойчивости исследуемых линий различаются между собой, отличаются от используемых известных эффективных генов, переданных от *Ae. speltoides* (Давоян, Жиров, 1995; Давоян, 1999).

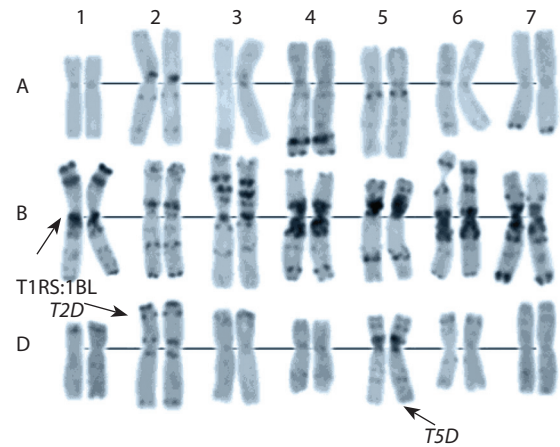


Fig. 2. C-banded karyotype of common wheat introgression line AA60n9.

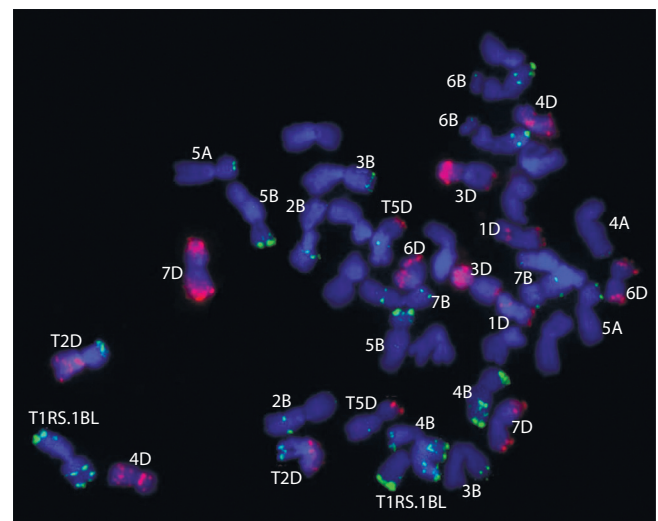


Fig. 3. FISH with probes pAs1 (red) and pSc119.2 (green) on metaphase chromosomes of line D37n10.

Существенно ускорить и облегчить эту работу позволяет использование ДНК-маркеров. Для идентификации генов устойчивости в интрогрессивных линиях предварительно был проведен анализ синтетической формы Авродес на присутствие ранее переданных от *Ae. speltoides* генов устойчивости к листовой ржавчине *Lr28*, *Lr35*, *Lr47* и *Lr51*. Установлено, что синтетическая форма содержит только два из перечисленных генов – *Lr28* и *Lr35* (Давоян Э.Р., 2012). В работе (Marais et al., 2010) был идентифицирован ген устойчивости *LrS13*. Этот ген – единственный из известных генов, переданных в 3A хромосому пшеницы, в дальнейшем получил название *Lr66*. Для идентификации гена *Lr66* предложен молекулярный маркер *16-S13*, однако на данном этапе работы его присутствие в анализируемых линиях не изучалось. Ген устойчивости *Lr36* в анализ не был включен в связи с отсутствием к нему эффективного молекулярного маркера. Исходя из этого, полученные интрогрессивные линии

анализировались только на наличие у них эффективных генов устойчивости к листовой ржавчине *Lr28* и *Lr35*.

При использовании маркера *SCS421* у образцов с геном *Lr28* амплифицируется маркерный фрагмент длиной 570 п. н. Данный фрагмент был выявлен в линии AD771 (рис. 4). Присутствие молекулярного маркера *BCD260F1/35R2*, сцепленного с геном *Lr35*, установлено в линиях AD771 и 2506n14 (рис. 5).

Таким образом, у большей части устойчивых линий наличие генов *Lr28* и *Lr35* не выявлено.

Оценка интрогрессивных линий по компонентам продуктивности и технологическим качествам зерна

При межвидовых и, особенно, межродовых скрещиваниях нередко наблюдается связь переданного положительного признака с отрицательными, такими как удлинение вегетационного периода, ухудшение хлебопекарных качеств, склонность к полеганию, понижение урожайности и др. (Knott, 1989; Brevis et al., 2008). Количество нежелательных признаков зависит от формы передачи и характера их проявления. В то же время передаваемый от природных сородичей генетический материал может либо не иметь негативного эффекта, либо быть сцепленным с другими положительными признаками (Zeller, Fuchs, 1983; Тимонова и др., 2012; Леонова, Будашкина, 2016).

Чтобы определить перспективы вовлечения полученных нами линий в селекционную практику, проводится их оценка по компонентам продуктивности и технологическим качествам зерна. В настоящей работе представлены результаты оценки пяти линий, которые по ряду показателей продуктивности и технологическому качеству зерна превышали сорт-реципиент Аврора.

Для изучения продуктивности использовали следующие показатели: масса 1000 зерен, масса зерна и количество колосьев на 1 м².

Масса 1000 зерен у линий варьировала от 29.6 (D129n10) до 42.2 г у линии D15n10 при среднем значении у сорта Аврора 38.1 г (табл. 5). Кроме линии D15n10, достоверно превышают по этому показателю сорт Аврора линии AA60n9, D37n10 и D39n10.

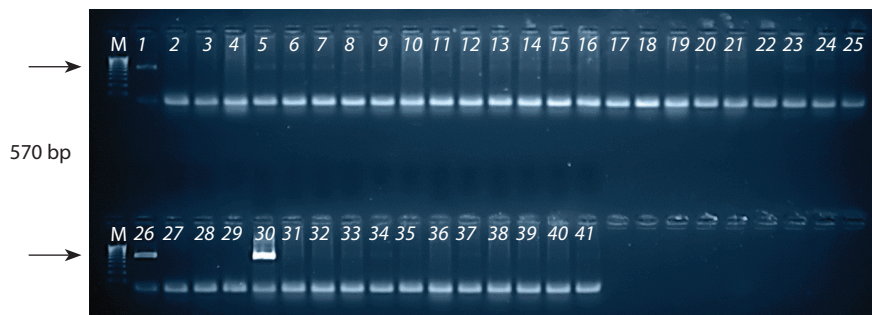


Fig. 4. Amplification products obtained with the primer to the *Lr28* leaf rust resistance gene. Lanes: 1, line TcLr28; 26, Avrodes; 2–25, 27–41, introgression lines; 30, line AD771.

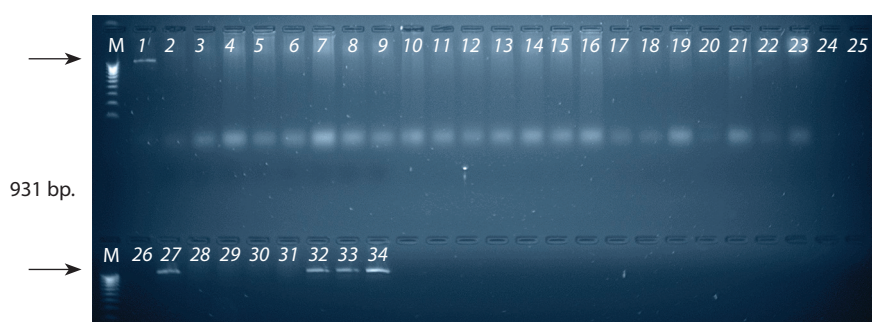


Fig. 5. Amplification products obtained with the primer to the *Lr35* leaf rust resistance gene. Lanes: 1, line TcLr35; 2–26, 28–32, introgression lines; 27, line 2506n14; 32, line AD771; 33, 34, Avrodes.

Table 5. Performance indices of Avrora/Avrodes introgression lines

Line	1000 kernel weight, g	Number of spikes, m ²	Grain weight, g/m ²
D15n10	42.2	362.0	426.5
AA60n9	40.7	345.2	435.4
D37n10	41.3	331.7	448.2
D39n10	41.5	357.2	431.0
D129n10	29.6	341.5	338.7
Avrora	38.1	357.0	364.1
HCP ₀₅	1.9	56.3	28.9

По количеству колосьев на 1 м² различия между показателями линий и сорта Аврора оказались несущественными.

По массе зерна с 1 м² линии D15n10, AA60n9, D37n10 и D39n10 тоже достоверно превышали аналогичный показатель у сорта Аврора (364.1 г). Наибольшее значение имела линия D37n10 – 448.2 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 (Vochev, 1983; Ухинова и др., 2009; Лайкова и др., 2013).

Содержание белка и клейковины у линий в значительной степени зависит от условий вегетационного периода. По этим показателям все исследуемые

Table 6. Bread-making qualities of *Avrora/Avrodes* common wheat introgression lines

Line	Content, %		Gluten deformation, IDK-1 units	Volume, ml	Overall score
	protein	gluten			
D15n10	17.1	34.4	85	780	4.4
AA60n9	15.0	30.8	74	745	4.5
D37n10	16.2	31.4	72	650	4.5
D39n10	15.8	31.0	78	645	4.1
D129n10	17.9	39.2	94	660	3.5
<i>Avrora</i>	14.0	28.2	75	640	4.4
HCP ₀₅	0.4	0.9	3	8	–

линии превосходили сорт-реципиент *Аврора*. Наивысшие значения имели линии D15n10 и D129n10 – 17.1 и 17.9 % белка, 34.4 и 39.2 % клейковины соответственно. Содержание белка и клейковины у сорта *Аврора* составило 14 и 28.2 % соответственно (табл. 6).

Технологические характеристики зерна определяются не только содержанием белка и клейковины. Важное значение имеет также качество клейковины. Это особенно актуально для интрогрессивных линий пшеницы с генетическим материалом дикорастущих сородичей. В основном высокое содержание белка и клейковины связано с ухудшением качества клейковины. В нашем анализе лучшие по содержанию белка линии D15n10 и D129n10 характеризуются наиболее высокими показателями ИДК клейковины, соответствующими по ГОСТ второй группе. У двух линий – AA60n9 и D37n10 – при относительно высоком содержании белка и клейковины ее качество соответствует первой группе. По объемному выходу хлеба полученные значения варьировали от 645 (D39n10) до 780 мл (D15n10) при 640 мл у сорта *Аврора*.

В итоге исследуемые линии различались между собой по общей хлебопекарной оценке. Линии D39n10 и D129n10 имели более низкую хлебопекарную оценку по сравнению с сортом *Аврора*, у которого она составила 4.4 балла. У трех линий – D15n10, AA60n9 и D37n10 – общая хлебопекарная оценка была на уровне сорта *Аврора*. В целом из изученных линий наибольший интерес по комплексу агрономических показателей представляют линии D15n10, AA60n9 и D37n10.

Обсуждение

Использование дикорастущих сородичей мягкой пшеницы в качестве источников новых генов устойчивости остается актуальной задачей современной селекции. Одной из основных задач при создании и использовании синтетической формы *Аврорес* являлась передача от *Ae. speltoides* мягкой пшенице устойчивости к болезням и, в частности, к наиболее распространенной и вредоносной – листовой ржавчине. В настоящее время в каталог генных символов пшеницы внесено шесть генов устойчивости, переданных от этого вида: *Lr28*, *Lr35*, *Lr36*, *Lr47*, *Lr51* и *Lr66* (McIntosh et al., 2013). Эти гены были перенесены в хромосомы мягкой пшеницы 4A, 2B, 6B, 7A, 1B и 3A (Friebe et al., 1996). Кроме этого, в работе (Адолина и др., 2012) была

охарактеризована новая транслокация T5BS-5BL-5SL от *Ae. speltoides* с эффективным геном, обозначенным как *LrASP5*.

Несмотря на большое количество переданных генов, не исключено, что у *Ae. speltoides* могут присутствовать другие гены устойчивости к листовой ржавчине, о чем также свидетельствуют полученные нами результаты.

Оценка устойчивости исследуемых линий к листовой ржавчине выявила значительное варьирование данного признака. Это может быть связано с различными интрогрессиями генетического материала *Ae. speltoides* у линий и возможной передачей нового гена(ов) устойчивости. На основе гибридологического анализа (Давоян, 1999) ранее было выявлено различие по генам устойчивости к листовой ржавчине у линий *Аврора/Аврорес*.

С использованием молекулярных маркеров проведен анализ синтетической формы *Аврорес* и созданных на ее основе линий на наличие ранее переданных от *Ae. speltoides* генов устойчивости *Lr28*, *Lr35*, *Lr47* и *Lr51*. Установлено, что синтетическая форма несет в себе только два из перечисленных генов – *Lr28* и *Lr35*. Ген *Lr28* был идентифицирован только в линии AD771, *Lr35* – в линиях AD771 и 2506n14. В то же время у большей части устойчивых линий присутствие этих генов не выявлено. Эти результаты свидетельствуют о том, что полученные нами линии могут нести другие, отличные от них (возможно, новые) эффективные гены устойчивости.

Цитологическим анализом было установлено, что генетический материал от синтетической формы *Аврорес* передается преимущественно посредством транслокаций, при этом интрогрессии затронули в основном хромосомы генома D. Полученные результаты вполне ожидаемы, учитывая то, что в синтетической форме *Аврорес* (BBAASS) геном D мягкой пшеницы замещен на геном S *Ae. speltoides*, а также объясняются способностью синтетика стимулировать гомеологичную конъюгацию хромосом (Tsatsenco et al., 1993).

Большинство линий, изученных с помощью дифференциальной окраски хромосом, несут одновременно транслокации на хромосомах 2D и 5D. По данным А.С. Сибиреева и др. (2015), транслокацию 2D/2S несут полученные ими линии Л195 и Л200, устойчивые к листовой и стеблевой ржавчине. Однако ни один из переданных ранее генов устойчивости от *Ae. speltoides* не имеет локализацию на

хромосоме 5D. Таким образом, можно сделать предположение о передаче нового гена(ов) от *Ae. speltoides* мягкой пшенице посредством транслокации 5D/5S. Чтобы более точно ответить на этот вопрос, необходимо провести дополнительные исследования.

Для практического использования в селекции интрогрессивные линии наряду с устойчивостью к болезням должны иметь относительно неплохие характеристики по продуктивности и технологическим качествам зерна. Оценка линий по таким компонентам продуктивности, как масса 1 000 зерен, масса зерна и количество колосьев на 1 м², выявила достоверное превышение показателей по сравнению с сортом-реципиентом Аврора по массе 1 000 зерен и массе зерна с 1 м² у линий D15n10, AA60n9, D37n10 и D39n10.

Исследуемые линии различаются по содержанию белка и клейковины, качеству клейковины и общей хлебопекарной оценке. Все анализируемые в данной работе пять линий превышали сорт-реципиент Аврора по содержанию белка и клейковины, при этом у двух линий (AA60n9 и D37n10) качество клейковины соответствует первой группе. Хлебопекарная оценка у трех линий (D15n10, AA60n9 и D37n10) была на уровне сорта Аврора.

Линии AA60n9 и D37n10 несут транслокацию от ржи T1BL.1RS и две транслокации на хромосомах 2D и 5D от *Ae. speltoides*. Они сочетают высокую устойчивость к листовой ржавчине с хорошими характеристиками по продуктивности и технологическим показателями зерна. Следует также отметить, что молекулярный анализ не выявил у них ранее переданных, известных генов устойчивости к листовой ржавчине.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о генетическом разнообразии и ценности исследуемых интрогрессивных линий для селекции мягкой пшеницы на устойчивость к листовой ржавчине.

Acknowledgments

This study was supported by the RAS Presidium program "Methodology and molecular methods of using uncommon cereal crops in breeding in order to raise varieties of a new species with unique adaptive properties and grain quality". Salina E.A. and Adonina I.G. acknowledge the support from State Budgeted Project 0324-2016-0001.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

Adonina I.G., Petrash N.V., Timonova E.M., Khristov Yu.A., Salina E.A. Construction and study of leaf rust-resistant common wheat lines with translocations of *Aegilops speltoides* Tausch. *Genetika = Genetics (Moscow)*. 2012;48(4):488-494. (in Russian)

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.

Bedbrook J.R., Jones J., O'Dell M., Thompson R.D., Flavell R.B. A molecular description of telomeric heterochromatin in *Secale* species. *Cell*. 1980;19:545-560. DOI 10.1016/0092-8674(80)90529-2.

Bochev B. The genus *Aegilops* – possibilities and perspectives of utilization the breeding of high quality wheat cultivar. *Proceed. of 7th World Cereal Genet. and Breed. Congress. Prague*, 1983;237-242.

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.

Cherukuri D.P., Gupta S.K., Charpe A., Koul S., Prabhu K.V., Singh R.B., Rizwanul Haq Q.M. Molecular mapping of *Aegilops speltoides* derived leaf rust resistance gene *Lr28* in wheat. *Euphytica*. 2005;143:19-26.

Davoyan R.O. Identification and localization of leaf rust resistance genes in common wheat lines with genetic material from *Aegilops speltoides*. *Nauchnye trudy KNIISKh [Proceedings of the Luk'yanenko Research Institute of Agriculture]*. Krasnodar, 1999;91-95. (in Russian)

Davoyan R.O., Zhiron E.G. The genome-substituted form Avrodes as a source of common wheat resistance to leaf rust and mildew. *Sel'skokhozyaystvennaya biologiya = Agricultural Biology*. 1995;1:98-101. (in Russian)

Davoyan R.O., Bebyakina I.V., Davoyan O.R., Zinchenko A.N., Davoyan E.R., Kravchenko A.M., Zubanova Y.S. Use of synthetic forms in the preservation and exploitation of the gene pool of wild common wheat relatives. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2012;16(1):44-51. (in Russian)

Davoyan E.R., Davoyan R.O., Bebyakina I.V., Davoyan O.R., Zubanova Y.S., Kravchenko A.M., Zinchenko A.N. Identification of leaf rust resistance genes in species of *Aegilops* L., synthetic forms and introgression lines of common wheat. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2012;16(1):116-122. (in Russian)

Dvorak J. Genetic variability in *Aegilops speltoides* affecting on homologous pairing in wheat. *Can. J. Genet. Cytol.* 1972;(19):133-141.

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.

Jiang J., Friebe B., Gill B.S. Recent advances in alien gene transfer in wheat. *Euphytica*. 1994;73:199-212.

Kerber E.R., Dyck P.L. Transfer to hexaploid wheat of linked genes for adult-plant leaf rust and seedling stem rust resistance from an amphiploid of *Aegilops speltoides* × *Triticum monococcum*. *Genome*. 1990;33:530-537.

Kimber G., Athwal R. A reassessment of the course of evolution of wheat. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1972;69:912-915.

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.

Laikova L.I., Belan I.A., Badaeva E.D., Rosseva L.P., Shepelev S.S., Shumny V.K., Pershina L.A. Development and study of spring bread wheat variety Pamyati Maystrenko with introgression of genetic material from synthetic hexaploid *Triticum timopheevii* Zhuk. × *Aegilops tauschii* Coss. *Genetika = Genetics (Moscow)*. 2013;49(1):103-112. (in Russian)

Leonova I.N., Budashkina E.B. The study of agronomical traits determining productivity of *Triticum aestivum*/*Triticum timopheevii* introgression lines with resistance to fungal diseases. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2016;20(3):311-319. (in Russian)

Mains E.B., Jackson H.S. Physiologic specialization in leaf rust of wheat, *Puccinia triticiana* Erikss. *Phytopathology*. 1926;16:89-120.

Manisterski A., Segal A., Lev A.A., Feldman M. Evolution of Israel *Aegilops* and *Agropyron* species for resistance to wheat leaf rust. *Plant Disease*. 1988;72:941-944.

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;171:71-85.

McIntosh R.A., Devos K.M., Dubovsky J., Rogers W.J., Morris C.F., Appels R., Anderson O.D. Catalogue of gene symbols for wheat: 2005 supplement. *Ann. Wheat Newslet.* 2005;51:272-285.

- McIntosh R.A., Yamazaki Y., Dubovsky J., Rogers J., Morris C., Appels R., Xia X.C. Catalogue of gene symbols for wheat. 2013. Available at: <http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes>
- Metodika Gosudarstvennogo sortoispytaniya selskokhozyaystvennykh kultur [Methods of State Variety Testing of Crops]. Moscow, 1988.
- Migushova E.F., Grigoreva O.G. Resistance of *Aegilops* to brown rust. Trudy po prikladnoy botanike, genetike i selektsii = Proceedings on Applied Botany, Genetics, and Breeding. 1973;50(1):227-243. (in Russian)
- 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.
- Rayburn A.L., Gill B.S. Isolation of a D-genome specific repeated DNA sequence from *Aegilops squarrosa*. Plant. Mol. Biol. Rep. 1986;4:102-109. DOI 10.1007/BF02732107.
- Salina E.A., Lim Y.K., Badaeva E.D., Shcherban A.B., Adonina I.G., Amosova A.V., Samatadze T.E., Vatolina T.Yu., Zoshchuk S.A., Leitch A.A. Phylogenetic reconstruction of *Aegilops* section *Sitopsis* and the evolution of tandem repeats in the diploids and derived wheat polyploids. Genome. 2006;49:1023-1035. DOI 10.1139/G06-050.
- Schneider A., Linc G., Molnar-Lang M. Fluorescence *in situ* hybridization polymorphism using two repetitive DNA clones in different cultivars of wheat. Plant Breeding. 2003;122:396-400. DOI 10.1046/j.1439-0523.2003.00891.x.
- Seyfarth R., Feuillet C., Schachermayer G., Winzeler M., Keller B. Development of a molecular marker for the adult plant leaf rust resistance gene *Lr35* in wheat. Theor. Appl. Genet. 1999;99:554-560.
- Sibikeev S.N., Voronina S.A., Badaeva E.D., Druzhin A.E. Study of resistance to leaf and stem rusts in *Triticum aestivum*-*Aegilops speltoides* lines. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektitsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2015;19(2):165-170. (in Russian)
- Timonova E.M., Leonova I.N., Belan I.A., Rosseeva L.P., Salina E.A. Effect of certain chromosome regions of *Triticum timopheevii* on the formation of pest resistance and quantitative traits in common wheat. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektitsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2012;16(1):142-159. (in Russian)
- Tsatsenco L.V., Zhirov 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.
- Uhinova E.P., Pylnev V.V., Rubets V.S. Cytogenetic analysis of soft wheat hybrids (*Triticum aestivum* L.) with Timopheev's wheat (*Triticum timopheevii* Zhuk). Izvestiya Timiryazevskoy selskokhozyaystvennoy akademii = Proceedings of the Timiryazev Agricultural Academy. 2009;2:131-137. (in Russian)
- Zeller F.J., Fuchs E. Cytologie und Krankheitsresistenz einer 1A/1R und mehrerer 1B/1R-Weizen-Roggen-Translokationsorten. Z. Pflanzenzucht. 1983;90(4):285-296.