

УДК 633.111.1:577.2

ПРИМЕНЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ В СЕЛЕКЦИИ ПШЕНИЦЫ В КРАСНОДАРСКОМ НИИСХ им. П.П. ЛУКЬЯНЕНКО

© 2012 г. Л.А. Беспалова¹, А.В. Васильев¹, И.Б. Аблова¹, В.А. Филобок¹,
Ж.Н. Худокормова¹, Р.О. Давоян¹, Э.Р. Давоян¹, Г.И. Карлов², А.А. Соловьев³,
М.Г. Дивашук², Н.К. Майер³, М.В. Дудников³, Н.В. Мироненко⁴, О.А. Баранова⁴

¹ ГНУ Краснодарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства
им. П.П. Лукьяненко Россельхозакадемии, Краснодар, Россия, e-mail: Vasilev2003@inbox.ru;

² Центр молекулярной биотехнологии ФБГОУ ВПО Российский государственный
аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева, Москва, Россия;

³ Кафедра генетики и биотехнологии ФБГОУ ВПО Российский государственный
аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева, Москва, Россия;

⁴ ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений
Россельхозакадемии, Санкт-Петербург, Россия

Поступила в редакцию 16 ноября 2011 г. Принята к публикации 20 декабря 2011 г.

В статье описываются первые опыты по применению молекулярных маркеров в селекции озимой пшеницы в Краснодарском НИИСХ им. П.П. Лукьяненко (КНИИСХ). Показаны наиболее эффективные точки приложения маркеров при создании новых сортов. Установлено наличие ряда генов, отвечающих за проявление хозяйственно ценных признаков в сортах селекции КНИИСХ.

Ключевые слова: селекция пшеницы, молекулярные маркеры, маркер-опосредованный отбор, MAS, устойчивость к болезням.

В Краснодарском НИИСХ им. П.П. Лукьяненко уже более 90 лет успешно проводится работа по созданию новых сортов мягкой и твердой пшеницы озимого, ярового и альтернативного типа развития. В Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию в 2011 г., включено 58 сортов селекции КНИИСХ. Они занимают лидирующее положение в структуре посевных площадей в Северо-Кавказском регионе, широко возделываются в странах Центральной Азии, Закавказья, Украине, Молдавии, в последние годы ряд сортов допущен к использованию в Турции. При создании новых сортов ученые Института используют самые современные подходы, опираясь на традиционные схемы и методы селекции пшеницы, разработанные академиком П.П. Лукьяненко, модифицированные и адаптированные к современным условиям.

Многочисленные факторы, характерные для современного сельскохозяйственного производства, включающие жесткую рыночную

конкуренцию, глобальные климатические изменения, ускорение смены патогенного комплекса и его расового состава, требуют от селекционера все большей интенсификации селекционного процесса и предсказуемости результатов с усилением преадаптивной и прецизионной составляющих (Жученко, 2004).

В последние годы в практическую работу селекционера приходит такой мощный инструмент отбора, как молекулярные маркеры. Будучи сцепленными с генами, отвечающими за проявление важнейших хозяйственно ценных признаков сельскохозяйственных растений, они позволяют достоверно провести отбор на уровне индивидуального растения или селекционной линии непосредственно по генотипу, не завуалированному модифицирующим действием средовых факторов. Молекулярные маркеры широко используют в своей работе селекционеры США, Европейского Союза, Австралии, Японии, Китая и других стран. По данным J. Dubcovsky (2004), действующая в США

программа «MAS wheat» в 2004 г. охватывала около 430 проектов, направленных на перенос 43 генов в 75 родительских форм пшеницы.

Мировые разработки в этой области, опубликованные в научных трудах и базах данных сети Интернет, позволили нам приступить к работе по использованию молекулярных маркеров в селекции пшеницы одновременно по нескольким направлениям. Объектами нашей работы стали гены, детерминирующие устойчивость к болезням: бурой (*Lr*), желтой (*Yr*) и стеблевой (*Sr*) видам ржавчины, контролирующие высоту растений (*Rht*), чувствительность к фотопериоду (*Ppd*), потребность в яровизации (*Vrn*), устойчивость к прорастанию на корню (*Vp*) и определяющие состав крахмала (*Wx*), а также локусы количественных признаков, влияющих на устойчивость к фузариозу колоса и пиренофорозу.

Исследования проводятся в сотрудничестве с Центром молекулярной биотехнологии и кафедрой генетики и биотехнологии РГАУ–МСХА им. К.А. Тимирязева, лабораторией мониторинга генетической эрозии ГНУ ВИР им. Н.И. Вавилова Россельхозакадемии, лабораторией иммунитета растений к болезням ГНУ ВИЗР Россельхозакадемии.

Внедрение молекулярных маркеров в традиционную схему селекции требует проведения предварительных исследований по изучению их эффективности при отборе и разработке индивидуальной методики для конкретной селекционной программы. В качестве пробного объекта мы выбрали ген устойчивости к бурой

ржавчине *Lr19*. Его присутствие предполагалось в сортах селекции КНИИСХ Яра и Паллада на основании желтой окраски мякиша, обусловленной геном *Y*, который сцеплен с геном *Lr19*. На первом этапе была произведена отработка протокола идентификации гена *Lr19* при помощи микросателлитного маркера STS Lr19-130, опубликованного на сайте Wheat CAP (<http://maswheat.ucdavis.edu>), и на наборе сортов и линий, которые, по нашим и литературным данным, несут этот ген. Для проверки данных генотипирования был проведен фитопатологический тест при искусственном заражении проростков исследуемых образцов краснодарской популяцией возбудителя бурой ржавчины, собранной на селекционных посевах в КНИИСХ. Полученные данные показали высокую степень совпадения данных оценки по генотипу и фенотипу (Васильев и др., 2009; Vasilyev *et al.*, 2010).

Полученная информация о работоспособности и эффективности молекулярного маркера позволила приступить к массовому скринингу селекционного материала, имеющего в родословной сорта и линии с подтвержденным наличием гена *Lr19*. Были обследованы линии контрольного питомника из комбинации Яра/Альмата/Кума. ПЦР-анализ показал присутствие искомого гена у 7 из 19 изученных линий (рис. 1).

Анализ исследуемых линий проводился после браковки по комплексу хозяйственно ценных признаков. Так как информация о наличии у данных линий гена *Lr19* отсутствовала, отбор проводился только на основании оценок по

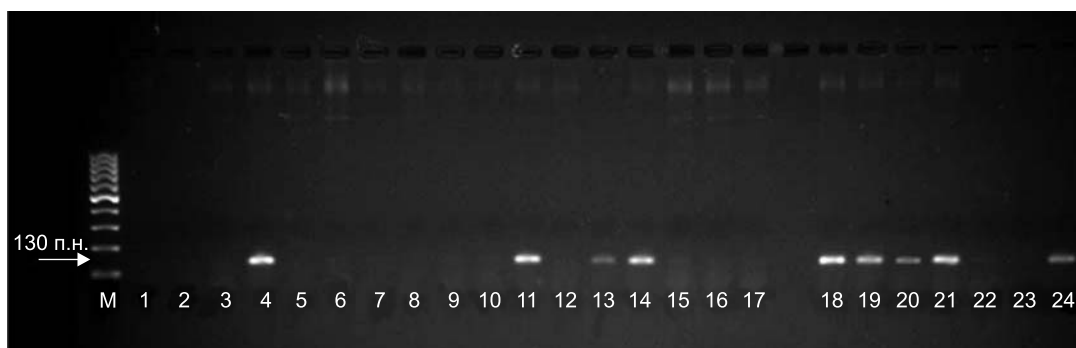


Рис. 1. Электрофорез продуктов амплификации ПЦР-анализа на маркер STS Lr19-130.

1 – Альмата, 13 – Яра, 22 – Кума, 24 – Паллада, 4, 11, 13, 14, 18–21 – линии с геном *Lr19*, 2, 3, 5–10, 12, 15–17 – линии без гена *Lr19*.

другим признакам, в том числе полевой оценке устойчивости к бурой ржавчине. В результате было отобрано и передано в конкурсное сортоиспытание 8 линий, из которых только у двух впоследствии был обнаружен искомый ген. Т. е. 75 % материала изученной гибридной комбинации оказалось неперспективным. В дальнейшем линии, содержащие в генотипе ген *Lr19*, были восстановлены из архива.

Применение молекулярных маркеров незаменимо для задач сочетания нескольких генов в одном сорте (пирамидирования). Известно, что сочетание нескольких генов устойчивости к бурой ржавчине в одном генотипе может обеспечивать более надежную и продолжительную защиту вследствие расширения генетической основы устойчивости (Roelfs *et al.*, 1995). Использование традиционных методов оценки устойчивости к бурой ржавчине с созданием искусственных инфекционных фонов позволяет выявлять индивидуальные растения в гибридной популяции, несущие ген устойчивости от донора, а проведение фитопатологического теста при заражении растений изолятами патогена – определять конкретный ген устойчивости. Но создание генотипов с комплексом генов, когда необходимо определить наличие одного гена устойчивости на фоне действия другого, становится очень сложной задачей. Применение молекулярных маркеров для этих целей позволяет решить эту проблему, опираясь не на фенотипическое проявление, а непосредственно на генетическую основу.

Подобные работы по сочетанию в одном генотипе пшеницы нескольких генов устойчивости изложены в работе S.L. Sydenham (2007), описывающей пирамидирование 5 генов и 2 локусов количественных признаков устойчивости к болезням (*Lr19*, *Lr34*, *Sr2*, *Sr26*, *YrSp*, *QYr.sgi-7D* и *QYr.sgi-2B*). D.G. Bonnett с соавт. (2005) описывают работу по сочетанию в одном генотипе генов устойчивости к болезням (*Sr2*, *Lr37*, *Yr17*, *Sr38*) и вредителям (*Cre1*), генов карликовости (*Rht-B1b*, *Rht8*) и генов, определяющих качество зерна (*Glu-B1*, *Glu-D1*, *Glu-A3*).

В 2009 г. нами были проведены скрещивания с целью переноса и пирамидирования генов устойчивости к бурой ржавчине, эффективных в условиях Краснодарского края, в коммерческие сорта селекции КНИИСХ. В качестве источ-

ников этих генов были использованы почти изогенные линии сорта Thatcher с генами *Lr9*, *Lr19*, *Lr24*, *Lr28*, *Lr37* и *Lr38*. Преимущество некоторых из них состоит в том, что они были перенесены из диких сородичей пшеницы в составе транслокаций совместно с другими генами устойчивости. Так, ген *Lr19* тесно сцеплен с геном *Sr25*, ген *Lr24* – с геном *Sr24*, ген *Lr37* входит в состав транслокации *VPM* вместе с генами *Yr17* и *Sr38*. В качестве сортов-реципиентов выбраны районированные сорта. Далее были проведены беккроссные скрещивания с целью увеличения доли адаптивного материала в генотипе.

В течение 2010–2011 гг. были произведены массовые анализы на присутствие интрогрессированного гена в генотипе. Всего было проанализировано 728 растений по всем беккроссным комбинациям. Растения, у которых были идентифицированы искомые гены устойчивости к бурой ржавчине, использовались для повторного беккросса и проведения скрещиваний по объединению нескольких генов в одном генотипе.

Данный этап нашей работы представляет собой упрощенный вариант маркер-опосредованного беккроссирования. Для проведения его в полном объеме и дальнейшего насыщения рекуррентным родителем необходимо отбирать растения, несущие максимальное количество его генетического материала и желательные участки хромосом от сорта-донора хозяйственно ценного признака (Collard *et al.*, 2005). Как показано в работе M. Frisch с соавт. (1999), при использовании достаточного числа маркеров, распределенных равномерно по всему геному, можно достичь 94,6 % совпадения с одним из родителей уже за два беккросса. Однако нами был целенаправленно выбран упрощенный вариант, при котором отбираются растения, наиболее приближенные к сорту-реципиенту по фенотипу и обладающие целевым геном от сорта-донора. На данном этапе развития работы по внедрению маркеров мы предпочли низкозатратный вариант работы.

В 2011 г. нами был проведен анализ коллекции коммерческих сортов на присутствие пшенично-ржаных транслокаций 1BL/1RS и 1AL/1RS, несущих ряд генов устойчивости к болезням (*Lr26*, *Sr31*, *Yr9* и *Pm8*) и обуславливающих комплекс адаптивных характеристик.

Для анализа использовали маркер SCM9 (Weng *et al.*, 2007). У 36 из 100 изученных образцов выявлена амплификация фрагментов, специфичных для 1BL/1RS:

Аврора	Колос
Айвина	Краснодарская 70
Афина	Красота
Бригада	Купава
Васса	Курень
Веда	Миллениум
Верта	Первица
Вершина	Половчанка
Вита	Полукарликовая 49
Восторг	Ростислав
Горлица	Руфа
Дея	Селянка
Дока	Соратница
Зимница	Таня
Иришка	Утриш
Кавказ	Фортуна
Княжна	Южанка
Коллега	Юка

Транслокация 1AL/1RS не выявлена. Результаты выявления транслокации 1BL/1RS при использовании маркера SCM9 на 98 % совпали с данными отдела технологии и биохимии зерна, основанными на присутствии аллеля *Gli-1B3*. Таким образом, данный ПЦР-маркер может быть использован для анализа ранних поколений селекционного материала, в то время как биохимический маркер на присутствие *Gli-1B3* на ранних этапах практически не используется.

С применением молекулярных маркеров стало возможным на более раннем этапе селекционного процесса идентифицировать материал на присутствие транслокации. Нами была выделена ДНК растений 50 линий комбинации 02-82t (Reykokko/Haruchiban) и 50 линий комбинации 06-13t (91-9t11/WSP96.6) в трехкратной повторности. Установлено достоверное наличие транслокации 1BL/1RS в линиях Л.02-82t12-13, Л.02-82t12-37 и Л.02-82t12-50. Помимо этого в трех линиях данной комбинации выявлено расщепление по изучаемому локусу. В комбинации 06-13t транслокация 1BL/1RS выявлена у 21 линии, у 13 линий выявлено расщепление.

В свете возрастающей угрозы распространения новой высокоагрессивной расы стеблевой ржавчины Ug99 особое значение приобретает

селекция на устойчивость к стеблевой ржавчине. Нами был проведен скрининг набора из 24 сортов КНИИСХ на наличие генов *Sr24*, *Sr25*, *Sr36* и *Sr31* с помощью молекулярных маркеров Sr24#50, Gb, Xwmc477 и SCM9 соответственно (<http://maswheat.ucdavis.edu>, Weng *et al.*, 2007). В результате было выявлено присутствие в сорте Паллада гена *Sr25*, эффективного по отношению к Ug99 (Singh *et al.*, 2006). В сортах Аврора, Кавказ, Восторг, Афина, Иришка, Айвина и Красота идентифицирован ген *Sr31*. В настоящее время проводится анализ присутствия других генов устойчивости к стеблевой ржавчине в коллекции сортов КНИИСХ.

Важным моментом при внедрении молекулярных маркеров в селекцию является определение их эффективности с точки зрения времени, удобства, трудозатрат и т. д. Затраты на проведение лабораторных анализов должны быть оправданы. С одной стороны, если селектируемый признак достаточно легко определяется по фенотипу или условия для его проявления возникают стабильно, то применение молекулярных маркеров для его отбора не всегда оправданно. С другой стороны, молекулярные маркеры могут оказаться незаменимым инструментом при работе с признаками, работа с которыми требует не только значительных материальных затрат, но и времени.

К таким работам можно отнести селекцию на устойчивость к фузариозу колоса. В 2011 г. группа линий, созданных на основе сортов Дельта и Дея, обладающих неспецифической устойчивостью, и сорта Sumai 3, общепризнанного донора специфической устойчивости, была протестирована на присутствие локуса количественных признаков *QFhs.ndsu-3BS*. С помощью микросателлитного маркера *Xgwm493* (Anderson *et al.*, 2001), сцепленного с данным локусом, был обнаружен полиморфизм среди изучаемых линий (табл.).

Все изучаемые линии показали устойчивость на уровне сорта Sumai 3 или несущественно ниже. Постоянный отбор с использованием искусственных инфекционных фонов привел к выбраковке неустойчивых форм. Но при этом передать локус специфической устойчивости от Sumai 3 не получилось. Чем была обусловлена относительная устойчивость той или иной линии – специфической устойчивостью от Sumai 3

Таблица

Идентификация локуса *QFhs.ndsu-3BS* и поражение фузариозом колоса при искусственном заражении линий озимой мягкой пшеницы и сорта Sumai 3 в 2011 г.

№	Сорт, линия	Комбинация	Специ- фичный фрагмент	Степень поражения		
				по колосу, балл / тип	по зерну	
					балл	%
1	Sumai 3		+	1 / VR	3	2,6
2	13–04 f 1	Дея9/Sumai 3	–	1 / VR	3	6,4
3	13–04 f 6	Дея9/Sumai 3	–	1–2 / VR	3	3,9
4	13–04 f 8	Дея9/Sumai 3	–	5–9 / S	3	9,6
5	13–04 f 9	Дея9/Sumai 3	–	1 / VR	2	1,1
6	13–04 f 10	Дея9/Sumai 3	+	1 / VR	3	5,9
7	170 f 1	Дельта/Sumai 3 aut//Дельта	–	1 / VR	3	4,4
8	170 f 2	Дельта/Sumai 3 aut//Дельта	–	1–2 / VR	1	0,0
9	170 f 3	Дельта/Sumai 3 aut//Дельта	гет./+	1–3 / R	3	6,5
10	170 f 4	Дельта/Sumai 3 aut//Дельта	+	1–2 / VR	3	4,3
11	170 f 5	Дельта/Sumai 3 aut//Дельта	–	1–2 / VR	3	2,3
12	170 f 6	Дельта/Sumai 3 aut//Дельта	–	1 / VR	3	4,5
13	170 f 7	Дельта/Sumai 3 aut//Дельта	–	1 / VR	4	14,2
14	170 f 11	Дельта/Sumai 3 aut//Дельта	–	1 / VR	4	16,0
15	170 f 12	Дельта/Sumai 3 aut//Дельта	гет./+	1 / VR	3	2,9

Обозначения. «–», «+» отсутствие, присутствие фрагмента, «гет./+» – гетерогенное присутствие фрагмента, «S» – восприимчивый тип реакции, «R» – устойчивый тип реакции, «VR» – высокоустойчивый тип реакции.

или неспецифической от сортов Дельта и Дея – до момента проведения анализа ясно не было. Проведенный с помощью молекулярного маркера анализ позволил решить эту задачу и отобрать наиболее перспективные линии для создания сортов, устойчивых к фузариозу колоса.

В 2010 г. программа по переносу локусов специфической устойчивости от Sumai 3 в коммерческие сорта КНИИСХ была запущена заново. С этой целью были проведены серии скрещиваний с рядом коммерческих сортов. С 2012 г. планируется массовый скрининг растений F₂ с помощью молекулярных маркеров, сцепленных с локусами *QFhs.ndsu-3BS* (*Fhb1*), *Qfhs.ifa-5A* и *Fhb2* (Buerstmayr *et al.*, 2009).

Применение молекулярных маркеров может существенно облегчить контроль признака устойчивости к прорастанию на корню. Этот признак в погодно-климатических условиях г. Краснодара проявляется нерегулярно. Но в случае дождливой погоды во время уборки отдельные сорта могут сильно прорасти на корню. В 2010 г. нами был проанализирован набор из

37 сортов КНИИСХ на аллельное состояние гена *Vp-1B*, контролирующего устойчивость к прорастанию на корню при помощи STS-маркера *Vp1B3* (Yang *et al.*, 2007). У 31 сорта присутствовал аллель *Vp-1Bc*, ассоциирующийся с устойчивостью к прорастанию. У сортов Васса, Фортуна, Коллега, Веда, Дока и Первица обнаружен аллель *Vp-1Ba*, отрицательно влияющий на устойчивость к прорастанию на корню. Данное направление работы требует дальнейших исследований по установлению связи аллельного состояния изучаемого гена с прорастанием на фоне генплазмы краснозерной пшеницы местного генофонда, так как изначально данные закономерности были выявлены китайскими исследователями для белозерной пшеницы.

С целью характеристики генотипов коммерческих сортов по генам редукции высоты, имеющим важное значение при создании сортов интенсивного типа, нами было проведено тестирование коллекции из 96 сортов КНИИСХ разных этапов селекции, двух мутантных линий (86КПМ684, М160бул.) и двух стандарт-

ных сортов (Norin 10, Novosadska Rana 1) на наличие генов *RhtB1b* (*Rht1*), *RhtD1b* (*Rht2*) и аллельного состояния гена *Rht8*. Для определения *RhtB1b* и *RhtD1b* использовали внутригенные маркеры (Ellis *et al.*, 2002), ген *Rht8* идентифицировали с помощью микросателлитного маркера *Xgwm261* (Korzun *et al.*, 1998). Установлено присутствие гена *RhtB1b* у 40 образцов из изученного набора, *RhtD1b* – у 13. Ген *Rht8* обнаружен у всех сортов в разных аллельных состояниях: *Rht8a* (дикий тип) – у 2 сортов, *Rht8b* – 9, *Rht8c* – 75, *Rht8g* – 3. У 8 сортов были амплифицированы фрагменты с не специфичной ни для одной из изученных аллелей длиной (194, 202, 204, 211, 213 п.н.).

С целью выявления мутантных аллелей по генам *Waxy*, контролирующим содержание амилопектина в крахмале зерна пшеницы, был проведен анализ коллекции из 98 сортов КНИИСХ разных этапов селекции на аллельное состояние генов *Wx-A1*, *Wx-B1* и *Wx-D1*. На основании амплификации различных систем молекулярных маркеров (Nakamura *et al.*, 2002; Vanzetti *et al.*, 2009; Дивашук и др., 2011) было обнаружено два сорта, несущих аллели *Wx-B1e* гена *Wx-B1* (Нота и Ласточка) и два сорта, несущих нуль-аллели *Wx-A1b* гена *Wx-A1* (Сила и Старшина). Данные сорта можно использовать в качестве основы для создания сортов мягкой пшеницы с модифицированным составом крахмала.

Таким образом, проведенные нами начальные исследования по применению молекулярных маркеров в практической работе по выведению новых сортов пшеницы показали, что их использование может существенно повысить эффективность и облегчить работу селекционера. С появлением на рынке нового высокопроизводительного оборудования для генотипирования селекционного материала эти анализы существенно дешевле, что позволяет более широко внедрять их в рутинную селекционную работу.

Необходимо также отметить, что полноценная работа по внедрению молекулярных маркеров требует изучения новых объектов с учетом требований конкретной селекционной программы. Это могут быть хозяйственно ценные признаки с еще невыясненной генетической основой, неизученные аллельные вариации местного генетического фонда и т. д. Подобные

работы фундаментального характера под заказ прикладной научной программы требуют комплексного подхода и мобилизации новейших достижений в области генетики, биотехнологии, молекулярной биологии и селекции. Только совместными усилиями специалистов этих и других областей науки можно будет полноценно использовать все преимущества молекулярных маркеров для решения практических задач по выведению новых сортов сельскохозяйственных культур.

Литература

- Васильев А.В., Беспалова Л.А., Филобок В.А. Использование ДНК-маркеров в селекции озимой пшеницы в Краснодарском НИИСХ им. П.П. Лукьяненко // Научное обеспечение агропромышленного комплекса: Матер. III всерос. науч.-практ. конф. молодых ученых. Краснодар, 18–20 ноября 2009. Краснодар: КубГАУ, 2009. С. 11–12.
- Дивашук М.Г., Климушина М.В., Карлов Г.И. Молекулярно-генетическая характеристика аллеля *Wx-B1e* мягкой пшеницы и применимость ДНК маркеров для его идентификации // Генетика. 2011. Т. 47. № 12. С. 1–5.
- Жученко А.А. Ресурсный потенциал производства зерна в России (теория и практика). М.: ООО «Издательство АгроРус», 2004. 1109 с.
- Anderson J.A., Stack R.W., Liu S. *et al.* DNA markers for Fusarium head blight resistance QTLs in two wheat populations // Theor. Appl. Genet. 2001. V. 102. No 8. P. 1164–1168.
- Bonnett D.G., Rebetzke G.J., Spielmeier W. Strategies for efficient implementation of molecular markers in wheat breeding // Mol. Breeding. 2005. V. 15. P. 75–85.
- Buerstmayr H., Ban T., Anderson J.A. QTL mapping and marker-assisted selection for Fusarium head blight resistance in wheat: a review // Plant Breeding. 2009. V. 128. P. 1–26.
- Collard B.C.Y., Jahufer M.Z.Z., Brouwer J.B., Pang E.C.K. An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts // Euphytica. 2005. V. 142. P. 169–196.
- Dubcovsky J. Marker-assisted selection in public breeding programs: the wheat experience // Crop Sci. 2004. V. 44. P. 1895–1898.
- Ellis M.H., Spielmeier W., Gale K.R. *et al.* 'Perfect' markers for the *Rht-B1b* and *Rht-D1b* dwarfing genes in wheat // Theor. Appl. Genet. 2002. No 105. P. 1038–1042.
- Frisch M., Bohn M., Melchinger A.E. Comparison of selection strategies for marker-assisted backcrossing of a gene // Crop. Sci. 1999. V. 39. P. 1895–1898.
- Korzun V., Roder M.S., Ganal M.W. *et al.* 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.) // Theor. Appl. Genet.

1998. V. 96. P. 1104–1109.
- Nakamura T., Vrinten P., Saito M., Kondo M. Rapid classification of partial waxy mutants using PCR-based markers // *Genome*. 2002. V. 45. P. 1150–1156.
- Roelfs A.P., Singh R.P., Saari E.E. *Rust Diseases of Wheat: Concepts and Methods of Disease Management*. Mexico, D.F.: CIMMYT 1995. 81 p.
- Singh R.P., Hodson D.P., Jin Y. *et al.* Current status, likely migration and strategies to mitigate the threat to wheat production from race Ug99 (TTKS) of stem rust pathogen // *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources* 2006. 1. N 054. DOI:10.1079/PAVSNNR20061054.
- Sydenham S.L. Pyramiding wheat rust resistance genes using marker-assisted selection. Master's theses, University of Free State, Republic of South Africa. 2007. Available at <http://etd.uovs.ac.za/ETD-db/theses/available/etd-02052009-140213/unrestricted/SydenhamSL.pdf>.
- Vanzetti L.S., Pflüger L.A., Rodríguez-Quijano M. *et al.* Genetic variability for *waxy* genes in Argentinean bread wheat germplasm // *Electronic J. Biotechnol.* 2009. V. 12. No 1. P. 1–9.
- Vasilyev A.V., Beshpalova L.A., Karlov G.I. *et al.* Marker-assisted selection for leaf rust resistance in the winter wheat in Krasnodar Lukyanenko Research Institute of Agriculture // *Abstr. of oral and poster presentations of 8th Intern. Wheat Conf.* St. Petersburg, June 1–4, 2010. St. Petersburg. 2010. P. 322–323.
- Weng Y., Azhaguvel P., Devkota R.N., Rudd J.C. PCR-based markers for detection of different sources of 1AL.1RS and 1BL.1RS wheat-rye translocations in wheat background // *Plant Breeding*. 2007. V. 126. P. 482–486.
- Yang Y., Zhao X.L., Xia L.Q. *et al.* Development and validation of a Viviparous-1 STS marker for pre-harvest sprouting resistance in Chinese wheats // *Theor. Appl. Genet.* 2007. V. 115. P. 971–980.

USE OF MOLECULAR MARKERS IN WHEAT BREEDING AT THE KRASNODAR LUKYANENKO RESEARCH INSTITUTE OF AGRICULTURE

**L.A. Beshpalova¹, A.V. Vasilyev¹, I.B. Ablova¹, V.A. Filobok¹, Zh.N. Khudokormova¹,
R.O. Davoyan¹, E.R. Davoyan¹, G.I. Karlov², A.A. Soloviev³, M.G. Divashuk²,
N.K. Mayer³, M.V. Dudnikov³, N.V. Mironenko⁴, O.A. Baranova⁴**

¹ Krasnodar Lukyanenko Research Institute of Agriculture, Krasnodar, Russia,
e-mail: Vasilev2003@inbox.ru;

² Centre for Molecular Biotechnology, Russian State Agrarian University –
Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Moscow, Russia;

³ Department of genetics and biotechnology, Russian State Agrarian University –
Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Moscow, Russia;

⁴ All-Russian Institute of Plant Protection, St. Petersburg, Russia

Summary

Pilot experiments on molecular marker application in breeding of winter wheat at the Krasnodar Lukyanenko Research Institute of Agriculture (KNIISH) are described. The most efficient ways of marker application in creating new cultivars are outlined. A variety of genes responsible for valuable agronomic traits in KNIISH varieties have been detected.

Key words: wheat breeding, molecular markers, marker-mediated selection, MAS, pest resistance.