

УДК 577.11:633.11:632.4

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ИНТРОГРЕССИВНЫХ ЛИНИЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ (*T. AESTIVUM*/*T. TIMOPHEEVII*)

© 2014 г. И.Н. Леонова¹, О.А. Орловская²,
М.С. Родер³, М.А. Нестеров¹, Е.Б. Будашкина¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук,
Новосибирск, Россия, e-mail: leonova@bionet.nsc.ru;

² ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь;

³ Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Germany

Поступила в редакцию 11 сентября 2014 г. Принята к публикации 3 октября 2014 г.

Изучено генетическое разнообразие коллекции интрогрессивных линий *T. aestivum*/*T. timopheevii* по микросателлитным локусам и устойчивости к грибным болезням. Генотипирование гибридных линий и родительских сортов мягкой пшеницы с помощью 143 SSR маркеров выявило в их геноме 521 и 440 аллелей соответственно, в среднем по 3,24/2,73 аллеля на локус. Сравнение индивидуальных хромосом по индексам генетического разнообразия свидетельствует о том, что наиболее низким разнообразием микросателлитных локусов характеризуются хромосомы 4D и 5D ($H = 0,16-0,21$) как родительских сортов, так и гибридных линий, а наиболее высокий индекс ($0,62-0,68$) показан для хромосом 5B и 6A. Анализ полиморфизма микросателлитных локусов и индексов H трех геномов интрогрессивных линий показал, что хромосомы генома В имеют более высокие показатели по сравнению с геномами А и D ($B > A > D$), что, вероятно, является результатом наличия чужеродных интрогрессий в эти хромосомы. Сравнение результатов молекулярного и фитопатологических тестов позволяет заключить, что, несмотря на жесткий отбор по признаку устойчивости к бурой ржавчине в первых поколениях и большое число поколений самоопыления, генетическое разнообразие интрогрессивных линий по микросателлитным локусам сохраняется, это свидетельствует о стабильности чужеродного генетического материала, перенесенного в геном мягкой пшеницы.

Ключевые слова: генетическое разнообразие, грибные болезни, интрогрессивные линии, мягкая пшеница *T. aestivum*, SSR маркеры, *T. timopheevii*.

ВВЕДЕНИЕ

Мягкая пшеница (*Triticum aestivum* L.) является одной из основных продовольственных культур во всем мире. По площади посевов она занимает первое место среди других зерновых культур и является основным продуктом питания для трети населения земного шара (<http://faostat.fao.org>). Современные тенденции в селекции пшеницы, направленные на замену местных районированных сортов на унифицированные высокоурожайные сорта, привели к сужению генетического разнообразия пшеницы по генам иммунитета к болезням и вредителям

(van de Wouw *et al.*, 2009). Интрогрессивная гибридизация является одним из способов расширения разнообразия мягкой пшеницы по генам устойчивости к грибным болезням, при этом в последние годы внимание исследователей обращено на привлечение диких и культурных сородичей в качестве источников эффективных генов иммунитета. Получение стабильных интрогрессивных форм пшеницы путем межвидовой гибридизации предполагает использование различных методических приемов, таких, например, как беккроссирование и рекуррентный отбор, приводящих к накоплению в геноме ценных аллелей генов и локусов

количественных признаков (QTL), при этом в процессе отбора ключевым моментом создания новых селекционных форм является поддержание и сохранение генетического разнообразия. Однако в настоящее время данные о тенденциях изменения генетического разнообразия интрогрессивных линий пшеницы, полученных на основе межвидовых скрещиваний, практически отсутствуют.

Традиционно для оценки генетического разнообразия различных видов злаковых культур используются морфологические, или фенотипические, характеристики (Marić *et al.*, 2004; Barakat *et al.*, 2013). Для селекционных линий и сортов могут быть использованы коэффициенты, рассчитанные на основании данных родословных (Cox *et al.*, 1986; Dreisigacker *et al.*, 2005; Rauf *et al.*, 2012). Однако число морфологических признаков ограничено, оценка их трудоемка и проявление признаков зависит от условий окружающей среды и эпистатических взаимодействий генов. Что касается оценок, основанных на использовании родословных, то такая информация не всегда доступна, недостаточно детализирована и вследствие этого слабо коррелирует с оценками, полученными с использованием фенотипических и молекулярных данных (Graner *et al.*, 1995; Dreisigacker *et al.*, 2004).

Анализ генетического разнообразия, основанный на применении молекулярных маркеров, используется около трех десятилетий, при этом в последние годы основной акцент делается на ДНК-маркеры, которые обладают существенными преимуществами по сравнению с морфологическими и биохимическими маркерами вследствие высокого уровня полиморфизма, отсутствия влияния условий внешней среды и стадии развития организма. В настоящее время ДНК-маркеры общепризнаны как эффективный и надежный способ характеристики генетических ресурсов пшеницы (Landjeva *et al.*, 2007; Varshney *et al.*, 2007).

Для расширения генетического разнообразия по генам иммунитета к грибным болезням была создана коллекция интрогрессивных линий на основе скрещивания мягкой пшеницы с тетраплоидной пшеницей *T. timopheevii* Zhuk. (Budashkina, Kalinina, 2001). Интрогрессивные линии были использованы для изучения

процессов формообразования, стабилизации гибридных форм и картирования QTL, определяющих устойчивость к бурой ржавчине *Puccinia triticina* Erikss. (Леонова и др., 2008; Гордеева и др., 2009). Целью данной работы была оценка генетического разнообразия и филогенетических взаимосвязей интрогрессивных линий *T. aestivum*/*T. timopheevii* с помощью микросателлитных маркеров, которые характеризуются кодоминантным типом наследования и хромосомной специфичностью.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе были использованы 34 интрогрессивные линии, полученные от скрещивания 5 сортов яровой мягкой пшеницы *T. aestivum*: Саратовская 29 (С29), Скала (Ск), Иртышанка 10 (Ирт 10), Целинная 20 (Ц20), Новосибирская 67 (Н67) с тетраплоидной пшеницей *T. timopheevii* var. *viticulosum* (BC₁F₁₈₋₂₀, 2n = 42) (рис.).

Оценку устойчивости к грибным болезням проводили на стадии взрослых растений в условиях естественного инфекционного фона на экспериментальных полях Института цитологии и генетики СО РАН (ИЦиГ, Новосибирск) и Сибирского НИИ растениеводства и селекции Россельхозакадемии (СибНИИРС, Новосибирск). Степень восприимчивости растений к бурой ржавчине (патоген *Puccinia triticina*) оценивали по 5-балльной шкале иммунитета Майнса и Джексона на стадиях выхода растения в трубку и молочной спелости зерна (Mains, Jackson, 1926). Симптомы поражения мучнистой росой (патоген *Blumeria graminis*) оценивались по модифицированной шкале Прескотта и Саери от 0 до 9 баллов (Захаренко и др., 2000).

Выделение ДНК, микросателлитный анализ, полимеразную цепную реакцию (ПЦР) и электрофорез фрагментов ПЦР проводили согласно ранее описанной процедуре (Леонова и др., 2005). Для генотипирования были использованы микросателлитные маркеры *Xgwm*, *Xgdm*, картированные в геномах *T. aestivum* и *T. timopheevii* (Salina *et al.*, 2006; Ganal, Röder, 2007).

Величину генетического разнообразия оценивали по индексу Н, рассчитанному для каждого микросателлитного локуса по формуле Нэя:

$$H = 1 - \sum x_{ik}^2$$

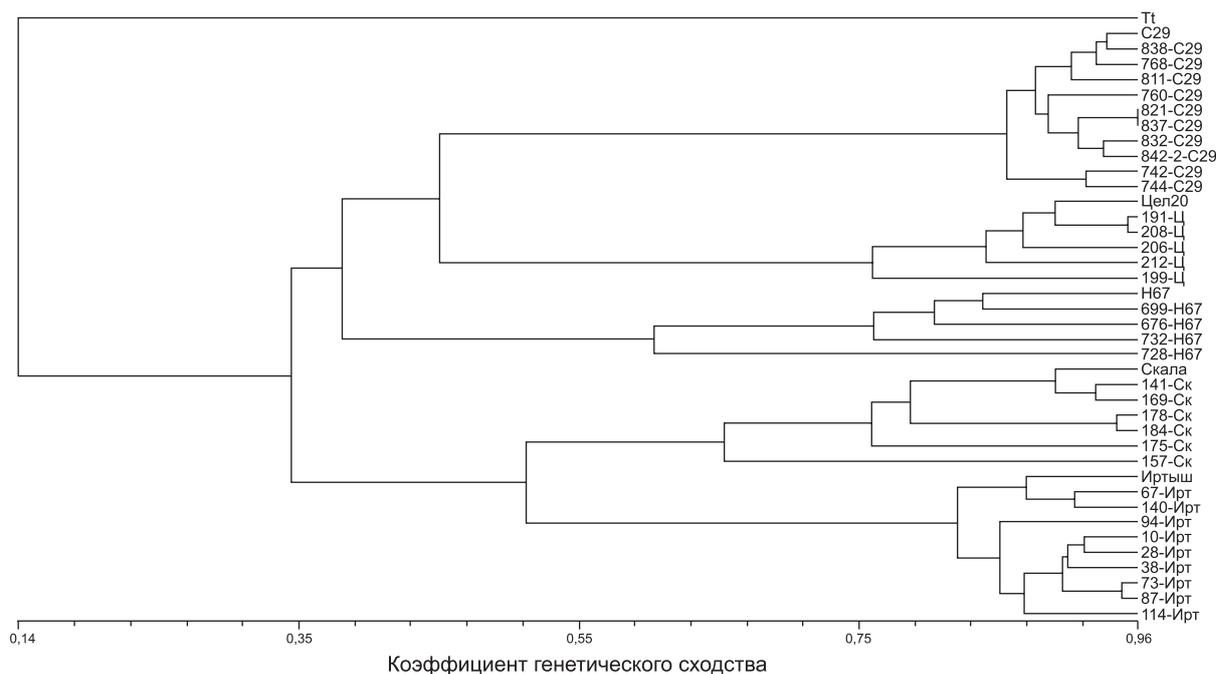


Рис. Дендрограмма генетического сходства интрогрессивных линий мягкой пшеницы *T. aestivum*/*T. timopheevii* и родительских форм.

Для построения дендрограммы использованы результаты, полученные для микросателлитных локусов трех геномов. Сорт мягкой пшеницы, участвующий в гибридизации, указан справа от номера линии. Tt – *T. timopheevii*.

где x_i – частота аллеля, k – число аллелей (Nei, 1973). Кластерный анализ проводили с помощью пакета программ NTSYS-рc 2.11Q (Rohlf, 1998). Данные амплификации фрагментов маркерами, представленные как 1 (наличие амплификации) или 0 (отсутствие), были конвертированы в бинарную матрицу с использованием алгоритма попарного невзвешенного кластерирования с арифметическим усреднением (UPGMA, unweighted pair-group method with arithmetic average). Генетическое сходство рассчитывалось для каждой пары образцов с использованием индекса сходства DICE (Dice, 1945).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Мониторинг устойчивости интрогрессивных линий и исходных родительских сортов мягкой пшеницы к популяциям бурой ржавчины и мучнистой росы, распространенным на территории Новосибирской области, проводился в течение длительного периода времени (с 1997 г. по 2014 г.) (табл. 1). В зависимости от года проведения испытаний уровень устойчивости линий к бурой ржавчине варьировал от иммунного

(балл 0) до среднеустойчивого (балл 2). Линии, происходящие от разных сортов, различались по степени устойчивости к патогену бурой ржавчины в следующем диапазоне: л. С29 > л. Ирт10 > л. Ск > л. Ц20 > л. Н67. Наиболее высокий уровень резистентности демонстрировали линии, полученные на основе сорта Саратовская 29, в то время как линии сортов Целинная 20 и Новосибирская 67 проявили среднечувствительный (балл 3) тип реакции в годы с высокой инфекционной нагрузкой патогена (2002 и 2008 гг.). Оценка линий на восприимчивость к мучнистой росе показала, что 13 из них проявляли высокоустойчивый тип реакции (балл 9–8) во все годы проведения полевых испытаний, у остальных тип реакции варьировал от среднечувствительного до среднеустойчивого, за исключением линии 728, для которой была характерна в основном высокая восприимчивость (балл 4–3) (табл. 1). Исходные родительские сорта показывали чувствительный тип реакции к возбудителям бурой ржавчины (балл 3–4) и мучнистой росы (балл 4–3) во все годы проведения испытаний. Полученные результаты свидетельствуют о том, что иммунитет, сформировавшийся в процессе

Таблица 1

Мониторинг степени устойчивости гибридных линий *T. aestivum*/*T. timopheevii* к бурой ржавчине и мучнистой росе в полевых условиях Новосибирской области за период 1997–2014 гг.

Родительский сорт мягкой пшеницы	Линия	Иммунность (баллы)	
		Бурая ржавчина	Мучнистая роса
Саратовская 29	742, 744	0/1	7–6
	760	0/1	5/7–6
	768	1/2	5
	811, 838	0/1/2	7–6/9–8
	821, 837	0/1	7–6/9–8
	832-2, 842-2	0/1	9–8
Скала	141, 157, 169, 178	1/2	9–8
	175	2	5/7–6
	184	1/2	5/7–6
Иртышанка 10	10, 38	0/1	5/7–6
	28, 67, 140	0/1/2	7–6/9–8
	73	0/1	9–8
	87	1/2	7–6
	94	1/2/3	9–8
	114	0/1/2	5
Целинная 20	191, 208	1/2	9–8
	199	1/2	5
	206, 212	1/2/3	9–8
Новосибирская 67	676	0/1/2/3	7–6
	699	1/2/3	5/7–6
	728	0/1/2/3	4–3/5
	732	0/1/2	9–8

отбора гибридных линий на устойчивость к бурой ржавчине, стабильно сохраняется в течение длительного периода времени, при этом ряд линий характеризуется комплексным иммунитетом к грибным болезням.

Для оценки генетического разнообразия устойчивых к грибным патогенам интрогрессивных линий *T. aestivum*/*T. timopheevii* в сравнении с исходными родительскими сортами мягкой пшеницы было использовано 143 SSR маркера, 12 из которых имеют множественную

локализацию в геноме мягкой пшеницы, всего был проанализирован 161 микросателлитный локус (Ganal, Röder, 2007).

На основании результатов анализа спектров амплификации 161 микросателлитного локуса в геноме гибридных линий и родительских сортов было выявлено 521 и 440 аллелей (включая нуль-аллели) соответственно, т. е. в среднем по 3,24 и 2,73 аллеля на локус (табл. 2). Оценка маркеров на полиморфизм показала, что наиболее информативными являются 10: *Xgwm273* (хромосома 1BL), *Xgwm614* (2AS), *Xgwm372* (2AL), *Xgwm720* (3AL), *Xgwm566* (3BL), *Xgwm736* (5AL), *Xgwm617* (5AL), *Xgwm66* (5BL), *Xgwm1165* (5BL) и *Xgwm843* (5BL), позволяющих выявлять фрагменты генома большинства исходных родительских форм, использованных для гибридизации. У интрогрессивных линий и сортов пшеницы среди трех исследованных геномов наиболее полиморфными оказались маркеры генома В, которые выявляли в среднем 3,58 и 2,93 аллеля на локус по сравнению с геномами А (2.67/3.18) и D (2.43/2.63) (табл. 2).

Сравнительный анализ индивидуальных хромосом по уровню полиморфизма микросателлитных локусов показывает, что наиболее полиморфными являются маркеры, локализованные на хромосомах 5В, 2А и 6А, выявляющие 4,62/3,81, 4,14/3,25 и 4,0/3,50 аллеля на локус у линий и сортов соответственно. В группу хромосом с наименее полиморфными микросателлитными локусами вошли хромосомы 5D и 4D, у которых обнаруживалось менее 2 аллелей на локус (табл. 2). Анализ данных аллельного разнообразия среди гомеологичных групп хромосом свидетельствует о том, что локусы, расположенные в 5-й гомеологичной группе, выявляют в среднем наибольшее число аллелей на локус (3,71/3,07) по сравнению с остальными группами хромосом. У исследованных образцов наименее полиморфными являлись маркеры 3-й, 4-й и 7-й гомеологичных групп, выявляющие 2,79/2,5, 2,56/2,44 и 2,77/2,62 аллеля на локус у гибридных линий и сортов соответственно.

Индекс генетического разнообразия Н варьировал от 0,00 до 0,82 в зависимости от микросателлитного локуса и в среднем был выше у интрогрессивных линий пшеницы

Таблица 2

Характеристика родительских сортов мягкой пшеницы и интрогрессивных линий *T. aestivum* / *T. timopheevii* по числу аллелей микросателлитных локусов в индивидуальных хромосомах, гомеологичных группах и геномах

Гомеологичная группа хромосом	Геном												Всего		
	А			В			D			Локусов	Аллелей (сорта/линии)	Аллели на локус (сорта/линии)			
	Число локусов	Число аллелей (сорта/линии)	Аллели на локус (сорта/линии)	Число локусов	Число аллелей (сорта/линии)	Аллели на локус (сорта/линии)	Число локусов	Число аллелей (сорта/линии)	Аллели на локус (сорта/линии)						
1	11	31/40	2,82/3,64	13	35/42	2,69/3,23	4	11/11	2,75/2,75	28	77/93	2,75/3,32			
2	8	26/33	3,25/4,14	7	15/20	2,14/2,86	5	11/12	2,20/2,40	20	52/65	2,60/3,25			
3	10	22/24	2,20/2,40	9	22/27	2,44/3,00	5	16/16	3,20/3,20	24	60/67	2,50/2,79			
4	7	17/17	2,43/2,43	5	15/17	3,00/3,40	4	7/7	1,75/1,75	16	39/41	2,44/2,56			
5	20	52/63	2,60/3,15	21	80/97	3,81/4,62	4	6/7	1,00/1,17	45	138/167	3,07/3,71			
6	6	21/24	3,50/4,00	5	10/15	2,00/3,00	4	9/13	2,25/3,25	15	40/52	2,67/3,47			
7	5	10/12	2,00/2,40	4	11/11	2,75/2,75	4	13/13	3,25/3,25	13	34/36	2,62/2,77			
Всего	67	179/213	2,67/3,18	64	188/229	2,93/3,58	30	73/79	2,43/2,63	161	440/521	2,73/3,24			

T. aestivum/T. timopheevii (0,47) по сравнению с родительскими сортами (0,42) (табл. 3). Сравнение индексов Н для индивидуальных хромосом свидетельствует о том, что хромосомы 4D и 5D характеризуются наиболее низким разнообразием микросателлитных локусов ($H = 0,16-0,21$) как у родительских сортов, так и у гибридных *T. aestivum/T. timopheevii*, а наиболее высокий индекс Н (0,62–0,68) показан для хромосом 5B и 6A. Индексы Н, усредненные для разных геномов, указывают на то, что геномы D родительских сортов и гибридных линий сравнимы, тогда как по геномам А и В генетическое разнообразие линий выше, чем исходных сортов мягкой пшеницы, что может быть связано с наличием интрогрессий в этих хромосомах (табл. 3).

Кластерный анализ показал, что все интрогрессивные линии распадаются на 5 групп, согласно их происхождению от сорта мягкой пшеницы, при этом наблюдается низкое генетическое сходство с родительской формой *T. timopheevii* var. *viticulosum* (рис.). Генетические дистанции внутри групп интрогрессивных линий варьируют от 0,6 до 0,97, наибольший диапазон различий наблюдается в группах, происходящих от сортов Новосибирская 67 и Скала.

Высокий коэффициент генетического сходства ($> 0,85$) отмечен в кластере, происходящем от сорта Саратовская 29, в котором у двух линий (821 и 837) наблюдается почти полное генетическое сходство по микросателлитным локусам. Линии 157 и 728 имеют обособленное положение в кластерных группах и значительно различаются по генетическим дистанциям от остальных линий в группах. Анализ спектров ПЦР этих линий выявил различия в длинах фрагментов амплификации у ряда SSR маркеров по сравнению с родительскими образцами, что позволяет сделать предположение о возможном происхождении этих линий от других сортов мягкой пшеницы.

Сравнение результатов молекулярного и фитопатологического тестов показывает, что группировка линий, согласно данным по устойчивости к бурой ржавчине и мучнистой росе, имеет сходство с кластеризацией на основе молекулярных данных, что отражает генетические изменения, произошедшие в геноме линий в процессе интрогрессивной гибридизации.

ОБСУЖДЕНИЕ

Оценка генетического разнообразия мирового генофонда растений является важным моментом для сохранения и управления генетическими ресурсами и для отбора родительских образцов с целью их дальнейшего использования в селекционных программах. Основной массив опубликованных данных по изучению генетического разнообразия включает сравнительный внутри- и межпопуляционный анализ различных видов злаковых культур, местных, стародавних и современных сортов, а также диких и культурных сородичей (Roussel *et al.*, 2005; Teklu *et al.*, 2006; Митрофанова и др., 2012). Имеется небольшое число работ, в которых генетическое разнообразие оценивается в потомстве селекционных линий, происходящем от близкородственных скрещиваний, либо в образцах, полученных в результате возвратных скрещиваний (Dreisigaker *et al.*, 2005; Liu *et al.*, 2007; Noori *et al.*, 2010).

В частности, в работах по оценке влияния возвратных скрещиваний были зафиксированы повышение генетического разнообразия в потомстве беккроссных линий и появление новых аллелей, которые не присутствуют у родительских форм (Zhang *et al.*, 2005; Li *et al.*, 2012).

Имеющиеся данные по исследованию влияния рекуррентного отбора свидетельствуют о том, что генетическое разнообразие образцов существенно не изменяется, а в некоторых случаях снижается по сравнению с родительскими формами (Liu *et al.*, 2007; Jiang *et al.*, 2010). Так, Noori с соавт. (2010), изучая генетическое разнообразие продвинутых поколений селекционных линий пшеницы, установили, что отбор по признакам устойчивости к болезням (фузариоз и желтая ржавчина) изначально увеличивал внутри- и межлинейное генетическое разнообразие, которое в дальнейшем снижалось с увеличением числа поколений самоопыления.

Что касается характеристики генетического разнообразия интрогрессивных линий, полученных в результате межвидовой гибридизации, то изучению этого вопроса посвящено всего несколько публикаций, в которых установлено существенное повышение индексов Н и концентрации в геноме ценных аллелей хозяйственно важных признаков (Masum Akond *et al.*, 2008;

Falke *et al.*, 2009; Deng *et al.*, 2012). Полученные нами данные показывают, что гибридные линии превосходят исходные родительские сорта как по показателю «число аллелей на локус», так и по индексу Н, который отражает частоту встречаемости аллелей (табл. 2, 3). Превышение показателя Н у интрогрессивных линий наблюдается суммарно для всех гомеологичных групп хромосом, за исключением 4-й группы, при этом существенные различия отмечаются для 2-й и 6-й групп. Более значительное повышение индекса Н для хромосом 1А, 2А, 2В и 6В по сравнению с остальными хромосомами интрогрессивных линий может свидетельствовать об их селекционной ценности (табл. 3). Следует также отметить, что несмотря на жесткий отбор по признаку устойчивости к бурой ржавчине в первых поколениях и большое число поколений самоопыления, генетическое разнообразие интрогрессивных линий по микросателлитным локусам сохранилось, что подтверждает стабильность чужеродного генетического материала, перенесенного в геном мягкой пшеницы.

Одним из наиболее важных параметров для описания различий и выявления полиморфизма анализируемых образцов является число аллелей на SSR локус, которое в разных исследованиях по изучению пшеницы варьирует (Roussel *et al.*, 2005; Vanzetti *et al.*, 2013). Значительная часть литературных данных указывает на то, что аллельное разнообразие находится в зависимости от размера и происхождения изучаемой выборки. Например, генотипирование 480 европейских сортов мягкой пшеницы с помощью 39 SSR маркеров показало варьирование числа аллелей для разных локусов от 4 до 40 (Roussel *et al.*, 2005). В исследовании О.П. Митрофановой с соавт. (2012) при изучении 116 афганских сортов мягкой пшеницы выявлялось до 22 аллелей на локус, как часто встречающихся, так и уникальных. По данным Брайан с соавт. (Bryan *et al.*, 1997), полученным для 49 микросателлитных маркеров и 10 сортов пшеницы, среднее число составляло 3,5 аллеля на локус. Однако при генотипировании 82 коммерческих сортов мягкой пшеницы из Казахстана С.Н. Абугалиевой с соавт. (2012) установлено, что число аллелей на SSR локус не превышает 3,3, что, по-видимому, связано с

выборкой образцов, районированных для данного региона и имеющих близкородственное происхождение. В нашей работе степень полиморфизма микросателлитных локусов у родительских сортов мягкой пшеницы составляла в среднем 2,73 аллеля/локус, что соответствует литературным данным, полученным для выборки небольшого размера.

Оценка интрогрессивных линий *T. aestivum/T. timopheevii* по уровню полиморфизма микросателлитных локусов и индексу Н показывает, что хромосомы генома В имеют в среднем более высокие показатели, чем хромосомы геномов А и D. Такая тенденция, $B > A > D$, описана у многих авторов независимо от типа маркерных систем, используемых для анализа, и плоидности пшеницы (Huang *et al.*, 2002; Ganeva *et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 2011). Более высокий уровень полиморфизма для отдельных хромосом или геномов может быть связан с наличием перестроек различного типа, произошедших в процессе формообразования. Такие данные в литературе приводятся. Так, у португальских сортов пшеницы была выявлена значительно более высокая полиморфность маркеров генома D по сравнению с маркерами В генома, что связано с наличием интрогрессий хроматина ржи в хромосому 2D (Riberto-Carvalho *et al.*, 2004).

Таким образом, результаты оценки интрогрессивных линий *T. aestivum/T. timopheevii* по аллельному составу микросателлитных локусов свидетельствуют о том, что линии превосходят родительские сорта мягкой пшеницы по генетическому разнообразию, что, в первую очередь, связано с наличием чужеродного хроматина, перенесенного из генома *T. timopheevii*. Полученные результаты могут быть использованы в научных и прикладных исследованиях для изучения механизмов чужеродной интрогрессии и утилизации интрогрессивных линий в селекционных программах.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 14-04-90000) и Министерства образования и науки Российской Федерации (соглашение № 14.604.21.0106).

ЛИТЕРАТУРА

- Абугалиева С.И., Волкова Л.А., Ерембаев К.А., Туруспеков Е.К. Генотипирование коммерческих сортов яровой мягкой пшеницы Казахстана с использованием микросателлитных ДНК-маркеров // Биотехнология. Теория и практика. 2012. № 2. С. 35–45.
- Гордеева Е.И., Леонова И.Н., Калинина Н.П., Салина Е.А., Будашкина Е.Б. Сравнительный цитологический и молекулярный анализ интрогрессивных линий мягкой пшеницы, содержащих генетический материал *Triticum timopheevii* Zhuk. // Генетика. 2009. Т. 45. С. 1616–1626.
- Захаренко В.А., Медведев А.М., Ерохина С.А. и др. Методика по оценке устойчивости сортов полевых культур на инфекционных и провокационных фонах. М.: Россельхозакадемия, 2000. 88 с.
- Леонова И.Н., Добровольская О.Б., Каминская Л.Н. и др. Молекулярный анализ линий тритикале, содержащих различные системы *Vrn* генов, с помощью микросателлитных маркеров и гибридизации *in situ* // Генетика. 2005. Т. 41. С. 1236–1243.
- Леонова И.Н., Родер М.С., Калинина Н.П., Будашкина Е.Б. Генетический анализ и локализация локусов, контролирующих устойчивость интрогрессивных линий *Triticum aestivum* × *Triticum timopheevii* к листовой ржавчине // Генетика. 2008. Т. 44. С. 1652–1659.
- Митрофанова О.П., Стрельченко П.П., Зуев Е.В., Стрит К., Конопка Я., Маккей М. О генетическом разнообразии местных сортов мягкой пшеницы, собранных научными экспедициями в Афганистане // Вавилов. журн. генет. и селекции. 2012. Т. 16. С. 579–591.
- Barakat M.N., Al-Doss A.A., Elshafei A.A., Ghazy A.I., Khaled A.M. Assessment of genetic diversity among wheat doubled haploid plants using TRAP markers and morpho-agronomic traits // Austr. J. Crop Sci. 2013. V. 7. P. 104–111.
- Bryan G.L., Collins A.J., Stephenson P. *et al.* Isolation and characterization of microsatellites from hexaploid bread wheat // Theor. Appl. Genet. 1997. V. 94. P. 557–563.
- Budashkina E.B., Kalinina N.P. Development and genetic analysis of common wheat introgressive lines resistant to leaf rust // Acta Phytopathol. Entomol. 2001. V. 36. P. 61–65.
- Cox T.S., Murphy J.P., Rodgers D.M. Changes in genetic diversity in the red winter wheat from regions of the United States // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 1986. V. 83. P. 5583–5586.
- Deng X.J., Luo X.D., Dai L.F. *et al.* Genetic diversity and genetic changes in the introgression lines derived from *Oryza sativa* L. mating with *O. rufipogon* Griff. // J. Integr. Agric. 2012. V. 11. P. 1059–1066.
- Dice L.R. Measures of the amount of ecologic association between species // Ecology. 1945. V. 26. P. 297–302.
- Dreisigacker S., Zhang P., Warburton M.L. *et al.* SSR and pedigree analyses of genetic diversity among CIMMYT wheat lines targeted to different megaenvironments // Crop Sci. 2004. V. 44. P. 381–388.
- Dreisigacker S., Melchinger A.E., Zhang P. *et al.* Hybrid performance and heterosis in spring bread wheat, and their relations to SSR-based genetic distances and coefficients of parentage // Euphytica. 2005. V. 144. P. 51–59.
- Falke K.C., Susić Z., Wilde P. *et al.* Testcross performance of rye introgression lines developed by marker-assisted backcrossing using an Iranian accession as donor // Theor. Appl. Genet. 2009. V. 118. P. 1225–1238.
- Ganal M.W., Röder M.S. Microsatellite and SNP markers in wheat breeding // Genomics assisted Crop Improvement / Eds R.K. Varshney, R. Tuberosa. Springer, 2007. V. 2. P. 1–24.
- Ganeva G., Korzun V., Landjeva S. *et al.* Genetic diversity assessment of Bulgarian durum wheat (*Triticum durum* Desf.) landraces and modern cultivars using microsatellite markers // Genet. Resour. Crop Ev. 2010. V. 57. P. 273–285.
- Graner A., Ludwig W.F., Melchinger A.E. Relationship among European barley germplasm. II. Comparison of RFLP and pedigree data // Crop Sci. 1995. V. 34. P. 1199–1205.
- Huang X.Q., Börner A., Röder M.S., Ganal M.W. Assessing genetic diversity of wheat (*Triticum aestivum* L.) germplasm using microsatellite markers // Theor. Appl. Genet. 2002. V. 105. P. 699–707.
- Jiang H., Gao Q.R., Li L.J. *et al.* Genetic diversity of recurrent selection populations with *Ms2* gene assessed by gliadins in common wheat (*Triticum aestivum* L.) // Agr. Sci. China. 2010. V. 9. P. 615–625.
- Landjeva S., Korzun V., Börner A. Molecular markers: actual and potential contributions to wheat genome characterization and breeding // Euphytica. 2007. V. 156. P. 271–296.
- Li L., Yaoyu X., Wensheng C. *et al.* The genetic variation of the backcross modified lines developed from the maize line 08-641 selected by different directions // Sci. Res. 2012. V. 3. P. 918–922.
- Liu J., Liu L., Hou N. *et al.* Genetic diversity of wheat gene pool of recurrent selection assessed by microsatellite markers and morphological traits // Euphytica. 2007. V. 155. P. 249–258.
- Mains E.B., Jackson H.S. Physiological specialization in the leaf rust of wheat, *Puccinia triticina* Erikss // Phytopathology. 1926. V. 16. P. 89–120.
- Marić S., Bolarić S., Martinčić J., Pejić I., Kozumplik V. Genetic diversity of hexaploid wheat cultivars estimated by RAPD markers, morphological traits and coefficients of parentage // Plant Breeding. 2004. V. 123. P. 366–369.
- Masum Akond A.S.M.G., Watanabe N., Furuta Y. Comparative genetic diversity of *Triticum aestivum*–*Triticum polonicum* introgression lines with long glume and *Triticum petropavlovskyi* by AFLP-based assessment // Genet. Resour. Crop Evol. 2008. V. 55. P. 133–141.
- Nei M. Analysis of gene diversity in subdivided populations // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 1973. V. 70. P. 3321–3323.
- Noori A., Ahmadikhah A., Soughi H., Dehghan M. The effects of selection for multiple traits on diversity of advanced wheat lines revealed by molecular markers // Adv. Appl. Sci. Res. 2010. V. 1. P. 153–159.
- Rauf S., Tariq S.A., Hassan S.W. Estimation of pedigree based diversity in Pakistani wheat (*Triticum aestivum* L.) germplasm // Commun. Biometry Crop Sci. 2012. V. 7. P. 14–22.
- Riberto-Carvalho C., Guedes-Pinto H., Igrejas G. *et al.* High levels of genetic diversity throughout the range of the portuguese wheat landrace ‘Barbela’ // Ann. Botany. 2004. V. 94. P. 699–705.

- Rohlf F.J. NTSYS-pc: numerical taxonomy and multivariate analysis system, vers. 2.0. N.Y.: Applied Biostatistics Inc., 1998.
- Roussel V., Leisova L., Exbrayat F. *et al.* SSR allelic diversity changes in 480 European bread wheat varieties released from 1840 to 2000 // *Theor. Appl. Genet.* 2005. V. 111. P. 162–170.
- Salina E.A., Leonova I.N., Efremova T.T., Röder M.S. Wheat genome structure: translocations during the course of polyploidization // *Funct. Integr. Genomics.* 2006. V. 6. P. 71–80.
- Teklu Y., Hammer K., Huang X.Q., Röder M.S. Analysis of microsatellite diversity in Ethiopian tetraploid wheat landraces // *Genet. Resour. Crop Ev.* 2006. V. 53. P. 1115–1126.
- van de Wouw M., Kik C., van Hintum T. *et al.* Genetic erosion in crops: concept, research results and challenges // *Plant Genet. Resour.* 2009. V. 8. P. 1–15.
- Vanzetti L.S., Yerkovich N., Chialvo E. *et al.* Genetic structure of Argentinean hexaploid wheat germplasm // *Genet. Mol. Biol.* 2013. V. 36. P. 391–399.
- Varshney R.K., Mahendar T., Aggarwal R.K., Börner A. Genic molecular markers in plants: development and applications // *Genomics-Assisted Crop Improvement* / Eds R.K. Varshney, R. Tuberosa. 2007. V. 1. P. 13–29.
- Zhang P., Dreisigacker S., Melchinger A.E. *et al.* Quantifying novel sequence variation and selective advantage in synthetic hexaploid wheats and their backcross-derived lines using SSR markers // *Mol. Breed.* 2005. V. 15. P. 1–10.
- Zhang L.Y., Liu D.C., Guo X.L. *et al.* Investigation of genetic diversity and population structure of common wheat cultivars in northern China using DArT markers // *BMC Genet.* 2011. V. 12. P. 42.

MOLECULAR DIVERSITY OF COMMON WHEAT INTROGRESSION LINES (*T. AESTIVUM*/ *T. TIMOPHEEVII*)

I.N. Leonova¹, O.A. Orlovskaya², M.S. Röder³, M.A. Nesterov¹, E.B. Budashkina¹

¹ Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia,
e-mail: leonova@bionet.nsc.ru;

² Institute of Genetics and Cytology, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus;

³ Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Germany

Summary

Genetic diversity of *T. aestivum*/*T. timopheevii* introgression lines was studied with regard to microsatellite loci and resistance to fungal diseases. Genotyping of hybrid lines and parental common wheat cultivars for 143 SSR markers revealed 521 and 440 alleles, respectively, or 3,24/2,73 alleles per microsatellite locus on the average. Comparison of genetic diversity indices of individual chromosomes revealed the lowest diversity for SSR loci on chromosomes 4D and 5D and the highest (0,62–0,67), on 5B and 6A. Evaluation of SSR polymorphisms and indices H in the three genomes of introgression lines indicated that the chromosomes of genome B had higher rates than A or D ($B > A > D$) which was probably a result of alien introgression into these chromosomes. Comparison of the results of molecular and phytopathological tests allows us to conclude that despite the severe selection for resistance to leaf rust in early generations and a large number of generations of selfing, the genetic diversity of introgression lines on microsatellite loci is preserved, which is indicative of the stability of alien genetic material in the common wheat genome.

Key words: genetic diversity, fungal diseases, introgression lines, common wheat *T. aestivum*, SSR markers, *T. timopheevii*.