

Интрогрессивные линии мягкой пшеницы с генетическим материалом *Agropyron glaucum*

Р.О. Давоян, И.В. Бебякина, Э.Р. Давоян, А.С. Зинченко, Ю.С. Зубанова, Д.С. Миков

Государственное научное учреждение Краснодарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства им. П.П. Лукьяненко, Краснодар, Россия

Пырей сизый *Agropyron glaucum* (Desf. ex DC) Roem. & Schult является ценным источником генов устойчивости к болезням, морозостойкости, выносливости к засолению. Для передачи генетического материала от этого вида мягкой пшенице был использован 76-хромосомный нестабильный амфидиплоид, объединяющий в себе геномы А и В мягкой пшеницы сорта Аврора, часть (6) хромосом генома D этого сорта и полный набор хромосом *Ag. glaucum* ($2n = 42$). Получен большой набор интрогрессивных линий мягкой пшеницы сорта Аврора, различающихся по комплексу морфо-биологических признаков. Для эффективного использования полученных линий в селекции проводятся цитологический и молекулярно-генетический анализы, оценка по устойчивости к болезням и качеству зерна. В данной статье рассмотрены результаты исследования 25 ранее не изученных интрогрессивных линий мягкой пшеницы с генетическим материалом *Ag. glaucum*. Определено, что за исключением линии D43 все остальные в M1 мейоза формируют 21 бивалент. В линиях D3, D21 и D23 генетический материал *Ag. glaucum* представлен в виде транслокационного сегмента, а в линии D7, D43 и D49 – в виде замещенных хромосом и предположительно транслокаций. У 18 линий замещена одна пара хромосом пшеницы. Для идентификации транслокаций и замещенных хромосом был проведен микросателлитный анализ с использованием специфичных к хромосомам D-генома маркеров. Интрогрессии затронули все хромосомы генома D, за исключением 3D и 4D. Исследуемые линии различаются по содержанию белка и клейковины, качеству клейковины и общей хлебопекарной оценке. Изучение спектров глиадина выявило изменение формулы глиадина у 7 из 12 линий по сравнению с сортом-реципиентом Аврора. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о генетическом разнообразии и ценности исследуемых интрогрессивных линий для селекции мягкой пшеницы.

Ключевые слова: интрогрессивные линии мягкой пшеницы, *Agropyron glaucum*, цитологический анализ, микросателлитный анализ, устойчивость к болезням, технологические качества зерна.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ?

Давоян Р.О., Бебякина И.В., Давоян Э.Р., Зинченко А.С., Зубанова Ю.С., Миков Д.С. Интрогрессивные линии мягкой пшеницы с генетическим материалом *Agropyron glaucum*. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2015;19(1):83-90. DOI 10.18699/VJ15.010

HOW TO CITE THIS ARTICLE?

Davoyan R.O., Bebyakina I.V., Davoyan E.R., Zinchenco A.N., Zubanova Y.S., Mikov D.S. Introgression of common wheat lines with genetic material of *Agropyron glaucum*. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii – Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2015;19(1):83-90. DOI 10.18699/VJ15.010

DOI 10.18699/VJ15.010
УДК 633.111.1:633.2:611.527
Поступила в редакцию 27.01.2015 г.
Принята к публикации 27.02.2015 г.
© АВТОРЫ, 2015

 e-mail: davoyanro@mail.ru

Introgression of common wheat lines with genetic material of *Agropyron glaucum*

R.O. Davoyan, I.V. Bebyakina, E.R. Davoyan, A.N. Zinchenco, Y.S. Zubanova, D.S. Mikov

SSI Krasnodar Research Institute of Agriculture, Krasnodar, Russia

Grey wheatgrass *Agropyron glaucum* (Desf. ex DC) Roem. & Schult is a valuable source of genes for resistance to diseases, frost resistance, and salt tolerance. An unstable 76-chromosomal amphidiploid combining genomes A and B of common wheat variety Avrora, six chromosomes of genome D of the same variety, and a full set of *Ag. glaucum* ($2n = 42$) chromosomes was used as an intermediate to transfer the genetic material from the wild donor to the said wheat variety. A large set of wheat introgression lines differing in a variety of morphobiological characters was developed. For effective employment of the developed lines in breeding, cytological and molecular-genetical analyses of the lines were conducted, and their pest resistance and grain technological properties were evaluated. We report the investigation of 25 common wheat introgression lines with genetic material from *Ag. glaucum*, not studied hitherto. All lines but D43 formed 21 bivalents in M1 meiosis. In lines D3, D21, and D23, the genetic material of *Ag. glaucum* was present as a translocation segment. Lines D7, D43, and D49 carried substituted chromosomes and, presumably, translocations. One pair of wheat chromosomes was substituted in 18 lines. For the identification of translocations and substituted chromosomes, microsatellite analysis was done with markers specific to D genome chromosomes. The introgression touched all D genome chromosomes except 3D and 4D. The lines under the study differed in protein and gluten contents, gluten quality, and bread-making quality. Study of gliadin spectra revealed changes in the gliadin formula in 7 of 12 lines with reference to the recipient Avrora variety. Thus, the results obtained point to genetic diversity of investigated introgression lines and their value for common wheat breeding.

Key words: introgression lines of common wheat, *Agropyron glaucum*, cytological analysis, microsatellite analysis, resistance to diseases, the technological quality of grain.

Несмотря на большие успехи в селекции мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), большое значение имеет создание сортов, которые наряду с высокой потенциальной урожайностью будут иметь эффективные гены устойчивости к различным видам биотических и абиотических стрессов. Актуальным остается повышение качества зерна. Многие из этих проблем можно решить путем переноса в геном пшеницы генетического материала от ее диких и культурных сородичей.

Генофонд дикорастущих сородичей в основном используется для передачи генов устойчивости к болезням. Значительная часть эффективных генов происходит из этого генофонда (McIntosh et al., 2005), но при этом не все из них нашли должное применение в селекционной практике (Friebe et al., 1996).

При межвидовых и особенно межродовых скрещиваниях зачастую наблюдается связь переданного положительного признака с отрицательными, такими как удлинение вегетационного периода, ухудшение хлебопекарных качеств, склонность к полеганию, понижение урожайности и др. (Worland et al., 1988; Knott, 1989; Brevis et al., 2008). Количество нежелательных признаков зависит от формы передачи и характера их проявления. Кроме того, возможно, в некоторых линиях генетический материал дикого вида в недостаточной степени компенсирует отсутствующие пшеничные хромосомы (Zeven, Waninge, 1986). В то же время передаваемый генетический материал от природных сородичей может либо не иметь негативного эффекта, либо быть сцепленным с другими положительными признаками (Zeller, Fuchs, 1983; Тимонова и др., 2012).

Пырей сизый *Agropyron glaucum* (Desf. ex DC) Roem. and Schult. (syn. *Thinopyrum intrmedium* (Host) Barkworth and D.R. Dewey) ($2n = 6x = 42$) является ценным источником генов устойчивости к болезням, морозостойкости, выносливости к засолению (Цицин, 1937; McGuire, Dvorak, 1981; Jauhar, Peterson, 1996). От этого вида в различные хромосомы мягкой пшеницы переданы гены устойчивости: *Lr 38*, *Sr 44*, *Pm40*, *Pm 43*, *Wsm 1*, *Bdv 2*, *Bdv 3* (Li, Wang, 2009; McIntosh et al., 2009).

Одним из эффективных способов передачи полезных генов от дикорастущего вида мягкой пшенице являются создание и использование синтетического амфидиплоида, в котором один из геномов мягкой пшеницы замещен на геном дикого сородича (Давоян и др., 2012).

Для передачи ценных признаков от *Ag. glaucum*, и в первую очередь устойчивости к болезням, использовался 76-хромосомный нестабильный амфидиплоид (Аврокум), объединяющий в себе геномы А и В мягкой пшеницы сорта Аврора, часть (6) хромосом генома D этого сорта и полный набор хромосом *Ag. glaucum* (Жиров, Терновская, 1984). В результате проведенной работы был получен большой набор интрогрессивных линий мягкой пшеницы, различающихся по комплексу

морфо-биологических и хозяйственно ценных признаков (Давоян и др., 2004).

Целью данной работы было всестороннее изучение (цитологический и молекулярно-генетический анализы, оценка по устойчивости к болезням и технологическим показателям зерна) 25 ранее не изученных интрогрессивных линий мягкой пшеницы с генетическим материалом *Ag. glaucum*.

Материалы и методы

Исходным материалом служили 25 линий мягкой пшеницы (BC₂F₁₆–BC₂F₂₂) с генетическим материалом *Ag. glaucum*, полученные от скрещивания синтетической формы Аврокум с восприимчивым к листовой ржавчине сортом Аврора.

Подсчет хромосом в метафазе I митоза проводился на давленных препаратах кончиков корешков проростков, окрашенных реактивом Шиффа. Изучение конъюгации хромосом в метафазе I мейоза проводилось на давленных препаратах, окрашенных уксуснокислым гематоксилином. В мейозе подсчитывали число бивалентов, унивалентов и мультивалентов. Цитологические исследования выполняли на микроскопе «Laboval 4» Karl Zeiss при увеличении 10 × 10; 40 × 10; 100 × 10.

Заражение и оценку по устойчивости к листовой ржавчине, желтой ржавчине и мучнистой росе проводили во взрослой стадии в полевых условиях по общепринятым методикам (Методы селекции ..., 1988). Устойчивость к листовой ржавчине определяли по шкале Майнса и Джексона (Mains, Jackson, 1926), желтой ржавчине – Гасснера и Штрайба (Gasner, Straib, 1934). К устойчивым относили растения с типом реакции к ржавчинам 0–2. Растения с промежуточным типом реакции от 0 до 1 обозначали баллом 01. Оценка по устойчивости к мучнистой росе проводили по шкале Гешеле (Пересыпкин, 1979). Растения со степенью поражения мучнистой росой 0–20 % считались устойчивыми.

Микросателлитный анализ проводили с использованием специфичных к хромосомам D-генома маркеров *Xgdm* (Pestsova et al., 2000): 1DL – *Xgdm* 111; 1DS – *Xgdm* 60; 2DL – *Xgdm* 6; 2DS – *Xgdm* 35; 3DL – *Xgdm* 38; 3DS – *Xgdm* 62; 4DL – *Xgdm* 125; 4DS – *Xgdm* 129; 5DL – *Xgdm* 3; 6DL – *Xgdm* 98; 6DS – *Xgdm* 108; 7DL – *Xgdm* 150; 7DS – *Xgdm* 130.

Аmplификация праймеров проходила при следующих условиях: 94 °C – 3 мин 30 циклов (95 °C – 15 с; 55–60 °C – 30 с; 72 °C – 2 мин) – 72 °C – 3 мин. Продукты ПЦР разделяли с помощью электрофореза в агарозном геле с 0,5 × буфером TBE. Концентрация геля варьировала от 1,8 до 2,3 % в зависимости от размера амплифицированного фрагмента. Гели окрашивали бромистым этидием и фотографировали в ультрафиолетовом свете с помощью фотобокса «INFINITI 1000». В качестве маркера молекулярной массы использовали ДНК-маркер M 24 100 bp «СибЭнзим».

Таблица 1. Характеристика линий Арокум/Аврора по устойчивости к болезням. 2008–2013 гг.

№	Линия	Ржавчина, тип реакции		Мучнистая роса, %
		листовая	желтая	
1	Д1	2	1	5
2	Д3	4	3	30
3	Д5	3	3	20
4	Д7	3	2	20
5	Д9	1/3	2	30
6	Д12	1	01	10
7	Д15	2	1	10
8	Д17	01	01	20
9	Д21	4	3	30
10	Д23	4	3	30
11	Д25	1/3	2	10
12	Д27	3	01	10
13	Д29	2	2	20
14	Д31	01	2	30
15	Д33	1	2	25
16	Д37	01	1	10
17	Д39	01	1	40
18	Д41	01	2	20
19	Д43	2(3)	3	15
20	Д49	2(3)	2	40
21	Д51	1	2	30
22	Д53	2	2	40
23	Р97	01	01	20
24	Р115	2	1	10
25	Р271	1	2	10
Аврора		4	1	40

Технологические качества зерна изучали в отделе технологии и биохимии зерна ГНУ КНИИСХ им. П.П. Лукьяненко по методикам Государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур (1988). Электрофорез глиадина проводили в крахмальном геле по методике Созинова и Поперели (1978).

Результаты

Устойчивость интрогрессивных линий к болезням

Поскольку главной задачей являлась передача от *Ag. glaucum* мягкой пшенице устойчивости к болезням, линии оценивались по устойчивости к одним из наиболее распространенных и вредоносных болезней – листовой ржавчине (*Puccini. triticina* Eriks.), желтой ржавчине (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) и мучнистой росе (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*).

В табл. 1 приведена характеристика линий Аврокум/Аврора по устойчивости к перечисленным болезням за 2008–2013 гг.

Из 25 проанализированных линий 16 были устойчивы к листовой ржавчине. Высокую устойчивость с типом реакции 01 проявили 7 линий: Д17, Д31, Д33, Д37, Д39, Д41 и Д43. Также были выявлены две линии, Д9 и Д25, с гетерогенным типом реакции, у которых на фоне высокой устойчивости (тип реакции 1) проявляются единичные пустулы с типом реакции 3.

Резистентность к желтой ржавчине несут 20 (80 %) линий, три из которых (Д12, Д17 и Д27) имеют тип реакции на заражение 01. Устойчивость к мучнистой росе проявили 14 линий.

Особую ценность для селекции представляют линии, устойчивые к комплексу болезней. Устойчивость одновременно к двум болезням проявили 9 линий и к трем – 10 линий (Д1, Д12, Д15, Д17, Д29, Д37, Д41, Р97, Р115 и Р271). Следует отметить линии Д12 и Д37, обладающие высокой устойчивостью ко всем трем болезням.

Большое разнообразие линий по устойчивости к болезням может свидетельствовать о множественных интрогрессиях генетического материала *Ag. glaucum* в геном мягкой пшеницы сорта Аврора.

Таблица 2. Анализ мейоза в МI МКП у гибридов F₁, полученных от скрещивания стабильных линий Аврокум/Аврора с сортом Краснодарская 99

Линия	Просмотрено клеток	21 ^{II} , %	20 ^{II} +2 ^I , %	Клетки с	
				унивалентами, отличными от 2 ^I , %	мультивалентами, %
Д1	73	24,7	69,9	2,7	2,7
Д3	80	78,7	17,5	-	3,8
Д5	84	15,4	77,4	3,6	3,6
Д7	67	31,3	59,7	3	6
Д9	82	24,4	69,5	2,4	3,7
Д12	74	13,5	79,8	4	2,7
Д15	79	38	55,7	1,3	5
Д17	94	21,3	72,3	2,1	4,2
Д21	86	66,3	25,6	2,3	5,8
Д23	75	57,4	36	1,3	5,3
Д25	70	35,7	58,6	2,8	2,9
Д27	85	34,1	62,4	-	3,5
Д29	98	87,8	7,2	2	3
Д31	84	22,6	72,6	2,4	2,4
Д33	73	34,2	60,3	1,4	4,1
Д37	82	26,8	66	2,4	4,8
д39	90	30	64,5	2,2	3,3
Д41	87	37,9	57,5	2,3	2,3
Д43	68	32,4	60,3	1,5	5,8
Д49	85	29,4	62,3	2,4	5,9
Д51	80	26,2	66,3	2,5	5
Д53	76	38,2	57,9	1,3	2,6
Р97	74	28,4	64,9	2,7	4
Р115	82	23,3	69,5	3,6	3,6
Р271	84	29,8	63	2,4	4,8
Аврора	92	75	19,6	1,1	4,3

Цитологическая и молекулярно-генетическая характеристика интрогрессивных линий

Наряду с полезными признаками, полученными от дикорастущего сородича, 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 привнесены в геном мягкой пшеницы (дополненные хромосомы, замещенные хромосомы, транслокации или рекомбинации).

Анализ растений изучаемых линий по числу хромосом в метафазе I митоза выявил, что все они являются 42-хромосомными. С учетом беккроссов и большого числа самоопыляющихся поколений это вполне объяснимо. По этой же причине ожидалась высокая доля цитологически стабильных линий.

Для установления цитологической стабильности изучали конъюгацию хромосом в метафазе I мейоза

в материнских клетках пыльцы (МКП) у 3–4 растений от каждой линии. Число просмотренных клеток на одну линию варьировало от 104 до 132 (см. Доп. материалы 1¹).

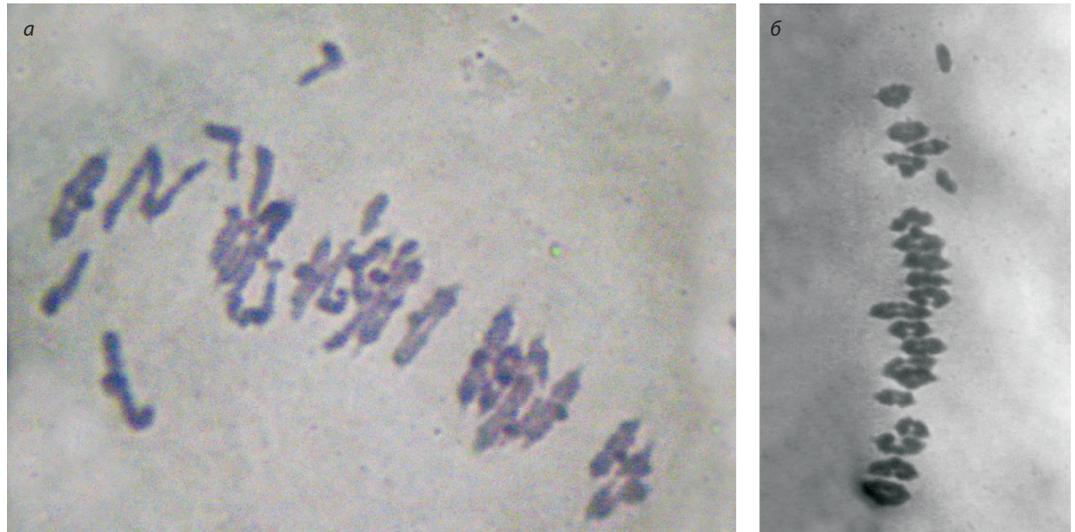
К цитологически стабильным относили линии, у которых количество изученных клеток с бивалентной конфигурацией хромосом (21^{II}) превышало 90 %.

В результате анализа было выявлено, что, за исключением одной линии (Д43), все остальные в МI мейоза формируют 21 бивалент и, таким образом, являются цитологически стабильными.

Наличие мультивалентов у линий Д12 и Д31 свидетельствует о возможном присутствии у них транслокаций.

Для того чтобы выяснить, в какой именно форме был передан генетический материал *Ag. glaucum* от синтетической формы, предварительно отобранные цитологически стабильные линии (21^{II}) были скрещены

¹ Дополнительные материалы см. в Приложении 1 по адресу: <http://www.bionet.nsc.ru/vogis/download/pict-2015-04/appx1.pdf>



Ассоциация хромосом в метафазе I мейоза у гибридов F₁.
а – Краснодарская 99 × Д21, 18^{II} + 1^{IV}; б – Краснодарская 99 × Д12, 20^{II} + 2^I.

с одним из наиболее мейотически стабильных сортов мягкой пшеницы селекции КНИИСХ – Краснодарская 99. Предполагалось, что если у исследуемых линий материал синтетиков представлен как транслокационный сегмент, то у гибридов F₁ в МI мейоза у более чем 50 % клеток будут формироваться биваленты и мультиваленты.

Если же генетический материал синтетиков в линиях представлен в виде целой хромосомы, то, как правило, ассоциация хромосом будет 20^{II}+2^I.

Процент клеток с мультивалентной ассоциацией хромосом колебался от 2,6 до 6 при 4,3 % у сорта Аврора, несущего транслокацию 1RS.1BL (табл. 2). Мультиваленты у изучаемых растений были представлены тривалентами, кваддивалентами как закрытого, так и открытого типа (рисунок, а). Число мультивалентов, приходящихся на одну клетку, не превышало двух.

У гибридов F₁ с линиями Д3, Д21 и Д23 в МI мейоза у более 50 % клеток ассоциация хромосом представлена бивалентами и мультивалентами. Следовательно, генетический материал *Ag. glaucum* в этих линиях имеет форму транслокационного сегмента.

Линии Д7, Д43 и Д49 наряду с замещенными хромосомами предположительно несут транслокации, так как у гибридов с ними в метафазе I мейоза формируется относительно большое количество клеток с мультивалентной ассоциацией хромосом – 6; 5,8 и 5,9 % соответственно.

Ассоциация хромосом в МI мейоза у гибридных растений F₁, полученных с участием линии Д29, схожа с таковой у сорта Аврора. В то же время эта линия отличается от сорта Аврора устойчивостью к листовой ржавчине и мучнистой росе. Вероятно, интрогрессия генетического материала *Ag. glaucum* в эту линию произошла за счет рекомбинации или небольшой транслокации.

У остальных 18 линий замещена одна пара хромосом пшеницы, так как в МI мейоза ассоциация хромосом представлена как 20^{II} + 2^I (рисунок, б).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что хромосомы *Ag. glaucum* могут в достаточной степени компенсировать отсутствие хромосом пшеницы, а также успешно конъюгировать с ними.

Относительно большое количество замещенных линий, полученных от скрещивания геномно-замещенной формы Аврокум с Авророй, а также их разнообразие по фенотипическим признакам позволяли надеяться на то, что произошло замещение разных хромосом D-генома пшеницы на хромосомы *Ag. glaucum*.

Для идентификации у исследуемых линий замещенных хромосом и транслокаций по геному D был проведен микросателлитный анализ с использованием специфичных к хромосомам D-генома маркеров *Xgdm* (Pestsova et al., 2000). По наличию амплификации судили о присутствии в геноме соответствующей хромосомы. Так, у линии Д51 отсутствовала амплификация праймеров по короткому и длинному плечам 7D хромосомы, что может предполагать ее замещение на соответствующую от *Ag. glaucum* (см. Доп. материалы 2). Кроме того, эта линия также имеет хромосомную перестройку (транслокацию) в коротком плече хромосомы 6DL.

У линий Д17, Д37, Д39, Д41 отсутствовала амплификация по короткому плечу хромосомы 2D и по длинному плечу 5D хромосомы. Эти линии предположительно имеют транслокацию 2DL.2Ag S и замещение хромосомы 5D мягкой пшеницы на 5Ag *Ag. glaucum*. Следует отметить, что все 4 линии проявляют одинаковый, высокий тип реакции устойчивости (01) к листовой ржавчине, что косвенно может также свидетельствовать об идентичности представленного в них генетического

материала *Ag. glaucum*. Транслокации по длинному плечу хромосомы 1D могут иметь линии Д43 и Д49.

В целом из 22 проанализированных линий у 7 из них – Д17, Д37, Д39, Д41, Д43, Д49, Д51 – выявлены хромосомные перестройки в геноме D мягкой пшеницы.

За исключением 3D и 4D, эти изменения произошли по всем хромосомам генома D. В остальных линиях интрогрессии, очевидно, затронули хромосомы других геномов, A или B.

Технологические качества зерна полученных линий

Помимо передачи мягкой пшенице устойчивости к различным биотическим и абиотическим факторам, повышения отдельных элементов продуктивности, чужеродные интрогрессии существенно влияют на технологические качества зерна и муки (Bochev, 1983; Аксельруд, Рыбалка, 2002; Лайкова и др., 2013).

Для выяснения технологических характеристик зерна была проведена оценка 12 линий урожая 2010 г. по содержанию белка и клейковины, качества клейковины, хлебопекарным качествам. В рамках этой работы также была проведена идентификация формулы глиадина у данных линий. Выявлено значительное разнообразие линий по изученным признакам (см. Доп. материалы 3).

Содержание белка у линий в сильной степени зависит от условий вегетационного периода и может накапливаться у отдельных из них до 20 %. Все исследуемые линии, за исключением Д23 и Д53, превышали сорт-реципиент Аврора по содержанию белка. Наивысшие показатели имели линии Д1 и Д31 – 18,1 и 17,2 % соответственно.

Генетические системы, детерминирующие количество клейковины так же, как и содержание белка, в значительной степени подвержены влиянию внешних условий. В целом, как и ожидалось, большинство линий превышает по этому показателю сорт-реципиент.

Из 12 проанализированных линий 9 имели содержание клейковины более 30 %. Минимальное значение по этому признаку составило 24,4 % (Д53), а максимальное – 38,4 % (Д1). Содержание клейковины у сорта Аврора составило 28,2 %.

Технологические качества зерна определяются не только высоким содержанием белка и клейковины. Важное значение имеет также и качество клейковины. Особенно это актуально для интрогрессивных линий пшеницы с генетическим материалом дикорастущих сороричей. В основном высокое содержание белка и клейковины связано с ухудшением качества клейковины.

В нашем анализе также лучшие по содержанию белка линии Д1, Д15 и Д31 имеют наиболее высокие показатели ИДК клейковины, соответствующие по ГОСТ второй группе. Выделено 6 линий с первой группой клейковины, при этом 4 из них – Д25, Д29, Д37 и Д49 – имеют высокие показатели по содержанию белка и клейковины.

По объемному выходу хлеба варьирование составляло от 645 мл (Д43) до 880 мл (Д7), при этом 11 линий превышают родительский сорт Аврора (640 мл).

В итоге исследуемые линии различались между собой по общей хлебопекарной оценке. Три линии, Д1, Д31, Д43, имели более низкую хлебопекарную оценку по сравнению с сортом Аврора (4,4 балла).

Семь линий, Д7, Д21, Д23, Д25, Д29, Д37 и Д49, имели более высокую, чем у сорта Аврора, оценку, при этом две из них, Д29 и Д49, высокую – 4,8 балла.

Хлебопекарные качества муки определяются специфическими реологическими свойствами клейковинного комплекса, состоящего в основе своей из глиадинов и глютеинов. Локусы, кодирующие субъединицы глютеина и компоненты глиадина, расположены в хромосомах первой и шестой гомеологических групп (Payne et al., 1982). В то же время в ряде работ установлено, что в контроле технологических и хлебопекарных качеств зерна мягкой пшеницы могут участвовать генетические факторы, расположенные в других хромосомах (Mansur et al., 1990; Пшеничникова и др., 2006). Это существенно расширяет возможности интрогрессивной селекции в улучшении технологических и хлебопекарных качеств мягкой пшеницы.

Глиадины представляют собой полиморфную белковую систему, что позволяет использовать аллельные варианты глиадинкодирующих локусов в качестве эффективных маркеров генотипа. Для записи спектров глиадина у изучаемых нами линий в нашей работе была использована форма, предложенная А.А. Созиновым (1978). Первая цифра обозначает номер хромосомы, буква – геном и последняя цифра – номер аллеля.

В результате проведенной работы у 7 из 12 линий были выявлены изменения формулы глиадина по сравнению с сортом Аврора (см. Доп. материалы 3). При этом многие линии сочетали высокое содержание белка и клейковины при хороших показателях ее качества. Изменения затронули хромосомы как 1-й гомеологической группы пшеницы Gld1D1 (линии Д23, Д25, Д53), Gld1D2 (линия Д29), так и 6-й: Gld6A3 (Д29), Gld6B2 (Д31, Д51), Gld6D2 (Д25). Линии Д37 и Д49 при одинаковой формуле глиадина с сортами-реципиентами имели значительные отличия от них по содержанию белка, клейковины и качеству клейковины. Очевидно, что не только хромосомы 1-й и 6-й гомеологических групп влияют на формирование белкового комплекса.

Обсуждение

Первые сведения о получении гибридов *Ag. glaucum* с пшеницей и их изучение относятся к 1930-м гг. (Вакар, 1935; Цицин, 1937; Хижняк, 1938). Несмотря на это можно сказать об относительно слабом использовании *Ag. glaucum* в селекции мягкой пшеницы. Основное внимание уделяется интрогрессии устойчивости к болезням и вредителям.

Главной задачей при получении нами интрогрессивных линий также являлась передача от *Ag. glaucum* мягкой пшенице устойчивости к болезням, и в частности к одной из наиболее распространенных и вредоносных – листовой ржавчине. В настоящее время известно о передаче от пырея сизого мягкой пшенице только одного гена устойчивости к листовой ржавчине – *Lr38*. Данный ген был передан посредством транслокации от длинного плеча хромосомы 7 группы *Ag. glaucum* в негомеологичные хромосомы пшеницы 2A, 5A, 1D, 3D и 6D (Friebe et al., 1992). Полученные линии снижали урожайность зерна (Dyck, Friebe, 1993) и не нашли широкого применения в селекции. В то же время не исключено, что у *Ag. glaucum* могут присутствовать другие гены устойчивости как к листовой ржавчине, так и к другим болезням, о чем также свидетельствуют полученные нами результаты. Оценка исследуемых линий выявила большое разнообразие по их устойчивости как к листовой, так и к желтой ржавчине и мучнистой росе. Это может быть связано с различием интрогрессивного генетического материала *Ag. glaucum* в геноме мягкой пшеницы сорта Аврора, и возможной передачей нового гена(ов) устойчивости. На основе гибридологического анализа (Давоян, 2012) ранее было выявлено различие по генам устойчивости к листовой ржавчине у линий Д17 и Д31. Таким образом, как минимум одна из них должна отличаться по гену устойчивости от *Lr 38*. Для более точного ответа на этот вопрос начаты работы по идентификации гена *Lr 38* в устойчивых к листовой ржавчине линиях.

Использование 76-хромосомного нестабильного амфидиплоида (Аврокум) позволило нам получить большой набор цитологически стабильных интрогрессивных линий мягкой пшеницы, различающихся по комплексу морфо-биологических и хозяйственно ценных признаков (Давоян и др., 2004).

Поскольку Аврокум объединял в себе геномы А и В мягкой пшеницы сорта Аврора, часть (6) хромосом генома D и полный набор хромосом *Ag. glaucum*, ожидалось, что интрогрессии в основном затронут геном D.

Ранее проведенная нами работа по идентификации замещенных хромосом на основании изучения мейоза MI у гибридов, полученных от скрещивания линий с тестерными чужеродно-замещенными линиями, выявила замещения по всем хромосомам генома D, за исключением хромосомы 1D (Давоян и др., 2005).

Микросателлитный анализ исследуемых в данной работе 22 линий выявил хромосомные перестройки по геному D у 7 линий, при этом изменения коснулись всех остальных хромосом генома D за исключением 3D и 4D. Обобщая полученные результаты, можно сделать вывод о том, что изменения затронули практически все хромосомы генома D. В то же время у ряда устойчивых линий (Д1, Д12, Д15, Д29, Д31 и др.) не было выявлено хромосомных перестроек по геному D. Очевидно, интрогрессии затронули хромосомы геномов А или В.

Исследуемые линии имеют значительный полиморфизм по содержанию белка и клейковины, качеству клейковины и общей хлебопекарной оценке. Большинство из них обладают более высокими показателями белка и клейковины по сравнению с сортом Аврора, при этом клейковина у линий Д25, Д29, Д37 и Д49 отнесена к первой группе. Хлебопекарная оценка 7 линий была выше, чем у сорта Аврора, у двух из них, Д29 и Д49, она была высокая и составила 4,8 балла.

Изучение спектров глиадинов у изучаемых 12 линий выявило изменение формулы глиадинов по сравнению с сортом-реципиентом Аврора. Изменения затронули хромосомы как 1-й гомеологичной группы пшеницы, так и 6-й.

Широкий спектр изменений глиадинкодирующих аллелей, содержания белка и клейковины полученных линий подтверждает возможность существенного изменения белкового комплекса мягкой пшеницы за счет интрогрессии в нее генетического материала диких сороридей.

Линии Д15, Д29 и Д37 сочетают хорошую хлебопекарную оценку с устойчивостью к комплексу болезней.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о генетическом разнообразии и ценности исследуемых интрогрессивных линий для селекции мягкой пшеницы.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта № 13-04-96-545 р-юг-а РФФИ и администрации Краснодарского края.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Аксельруд Д.В., Рыбалка А.И. Оригинальные агротехнологические свойства линий озимой мягкой пшеницы на основе чужеродных интрогрессий от диких и культурных сороридей. Пути повышения и стабилизации производства высококачественного зерна: Сб. докл. Междунар. науч.-практ. конф. Краснодар, 2002:34-37.
- Вакар Б.А. Цитология пшенично-пырейных гибридов. Омск: Омское областное изд-во, 1935.
- Давоян Р.О., Бебякина И.В., Бессараб К.С. Получение и характеристика чужеродно-замещенных линий озимой мягкой пшеницы Аврора с хромосомами *Agropyron glaucum*. Эволюция научных технологий в растениеводстве: Сб. науч. тр., посвящ. 90-летию КНИИСХ им. П.П. Лукьяненко. Краснодар, 2004; 3:3-9.
- Давоян Р.О., Бебякина И.В., Кекало Н.Ю. Идентификация хромосом пырея сизого (*Agropiron glaucum*) у замещенных линий сорта мягкой пшеницы Аврора. Наука Кубани. 2005;4: 104-107.
- Давоян Р.О., Бебякина И.В., Давоян О.Р., Зинченко А.Н., Давоян Э.Р., Кравченко А.М., Zubanova Ю.С. Синтетические формы как основа для сохранения и использования генофонда диких сороридей мягкой пшеницы. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2012;16(1):44-51.

- Давоян О.Р. Изучение интрогрессивных линий *Triticum aestivum* L. для использования в селекции мягкой пшеницы: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Краснодар, 2012.
- Жиров Е.Г., Терновская Т.К. Геномная инженерия у пшеницы. Вестн. с.-х. науки. 1984;10:58-66.
- Лайкова Л.И., Белан И.А., Бадаева Е.Д., Россеева Л.П., Шепелев С.С. Создание и изучение сорта яровой мягкой пшеницы «Памяти Майстренко» с интрогрессией генетического материала от синтетического гексаплоида *Triticum timopheevii* Zhuk. × *Aegilops tauchii* Coss. Генетика. 2013;49(1):103-112.
- Методы селекции и оценки устойчивости пшеницы и ячменя к болезням в странах-членах СЭВ. Прага, 1988.
- Методика Государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур. М., 1988.
- Пересыпкин В.Ф. Болезни зерновых культур. М.: Колос, 1979: 122-124.
- Пшеничникова Т.М., Ермакова М.Ф., Попова Р.К. Технологические качества зерна и муки мягкой пшеницы в линиях с межсортовым замещением хромосом 1 и 6 гомеологичных групп. С.-х. биология. 2006;1:57-62.
- Тимонова Е.М., Леонова И.Н., Белан И.А., Россеева Л.П., Салина Е.А. Влияние отдельных участков хромосом *Triticum timopheevii* на формирование устойчивости к болезням и количественные признаки мягкой пшеницы. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2012;16(1):142-159.
- Созинов А.А., Поперела Ф.А. Методика вертикального дискового электрофореза в крахмальном геле и генетический принцип классификации глиадинов. Одесса, 1978.
- Хижняк В.А. Формообразование у пшенично-пырейных гибридов. Изд. АН СССР. 1938:597-626.
- Цицин Н.В. Что дает скрещивание пшеницы с пыреем. М.: Сельхозиздат, 1937.
- Bochev B. The genus *Aegilops* – possibilities and perspectives of utilization the breeding of high quality wheat cultivar. Proc. of 7th World Cereal Genet. and Breed. Congr. 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 LR 47. Crop Sci. 2008;48:1441-1451.
- Dyck P.L., Fiebe B. Evaluation of leaf rust resistance from wheat chromosomal translocation lines. Crop Sci. 1993;33:687-690.
- Gasner G., Straib U.W. Weitere Untersuchungen über die Spezialisierung sverhältnissesdes Gelbrostes *Puccinia glumarum* (Schm.) Erikss. u. Henn. Arb. Boil. Reichsanstalt. 1934;21:121-145.
- Friebe B., Zeller F.J., Mukai Y., Forster B.R., Bartos P., McIntosh R.N. Characterization of rust-resistant wheat- *Agropyron* intermedium derivatives by C-banding, *in situ* hybridization and isozyme analysis. Theor. Appl. Genet. 1992;83:775-782.
- 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.
- Jauhar P.P., Peterson T.S. *Thinopyrum* and *Lophopyrum* as a sources of genes for wheat improvement. Cereal Res. Commun. 1996;24: 15-21.
- Knott D.R. The effect of transfers of alien genes for leaf rust resistance on the agronomic and quality characteristics of wheat. Euphytica. 1989;44:65-72.
- Li H., Wang X. *Thinopyrum ponticum* and *Th. intermedium*: the promising source of resistance to fungal and viral diseases of wheat. J. Genet. Genom. 2009;36:557-565.
- Mains E.B., Jakson H.S. Physiologic specialization in leaf rust of wheat, *Puccinia triticina* Erikss. Phytopatology. 1926;16:89-120.
- Mansur L.M., Qualset C.O., Kasarda D.D. Effects of «Cheyenne» chromosomes on milling and baking quality in «Chinese Spring» wheat in relation to glutenin and gliadin storage proteins. Crop Sci. 1990;30:593-602.
- McGuire P.E., Dvorak J. High salt-tolerance potential in wheat grasses. Crop Sci. 1981;21(5):497-500.
- McIntosh R.A., Devos K.M., Dubcovsky J., Rogers W.J., Morris C.F., Appels R., Anderson O.D. Catalogue of gene symbols for wheat: 2005 supplement. Ann. Wheat Newsletter. 2005;51:272-285.
- McIntosh R.A., Dubcovsky J., Rogers W.J., Morris C., Appels R., Xia X. Catalogue of gene symbols for wheat: 2009 supplement. Ann. Wheat Newsletter. 2009;55:256-278.
- Payne P.I., Holt L.M., Lawrence G.J. The genetics of gliadinis and glutenins, the major storage proteins of the wheat endosperm. Plant Foods Human Nutr. 1982;31:229-241.
- Pestsova E., Ganal M.W., Roder M.S. Isolation and mapping of microsatellite markers specific for the D genome of bread wheat. Genome. 2000;43:689-697.
- Worland A.J., Law C.N., Hollins T.W., Kabner R.M.D., Guira A. Location of a gene for resistance to eyesot (*Pseudocercospora herpotrichoides*) on chromosome 7D of bread wheat. Plant Breeding. 1988;101(1):43-51.
- Zeller F.J., Fuchs E. Cytologie und Krankheitsresistenz einer 1A/1R-und mehrerer 1B/1R-Weizen-Roggen-Translokationssorten. Z. Pflanzenzucht. 1983;90(4):285-296.
- Zeven A.C., Waninge J. The degree of similarity or backcross lines of *Triticum aestivum* cultivars Manitou and Neepawa with *Aegilops speltoides* accessions as donor. Euphytica. 1986;35:677-685.