

На правах рукописи

ЛЕОНОВА
Ирина Николаевна

**ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ УСТОЙЧИВОСТИ К ГРИБНЫМ
БОЛЕЗНЯМ У МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ С ИНТРОГРЕССИЯМИ ОТ
TRITICUM TIMORHEEVII ZHUK.**

03.02.07 – генетика

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук

Новосибирск – 2015

Работа выполнена в лаборатории молекулярной генетики и цитогенетики растений Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск

Научный консультант: доктор биологических наук, профессор
Салина Елена Артемовна

Официальные
оппоненты: **Митрофанова Ольга Павловна**
доктор биологических наук, старший научный
сотрудник, зав. отделом генетических ресурсов
пшеницы, ФГБНУ «Федеральный исследовательский
центр Всероссийский институт генетических ресурсов
растений им. Н.И. Вавилова», г. Санкт-Петербург

Агафонов Александр Викторович,
доктор биологических наук, старший научный
сотрудник, ведущий научный сотрудник лаборатории
интродукции редких и исчезающих видов растений,
ФГБУН Центральный сибирский ботанический сад
Сибирского отделения РАН, г. Новосибирск

Шаманин Владимир Петрович,
доктор сельскохозяйственных наук, профессор,
профессор кафедры агрономии, селекции и
семеноводства, ФГБОУ ВПО Омский
государственный аграрный университет им. П.А.
Столыпина, г. Омск

Ведущая
организация: ФГУ «Федеральный исследовательский центр
«Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, г.
Москва

Защита диссертации состоится «__» _____ 2015 г. на утреннем заседании диссертационного совета Д 003.011.01 по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, ученой степени доктора наук в ИЦиГ СО РАН в конференц-зале по адресу: 630090 г. Новосибирск, проспект академика Лаврентьева, 10, тел. (383) 363-49-06, факс: (383) 333-12-78, e-mail: dissov@bionet.nsc.ru.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ИЦиГ СО РАН и на сайте Института <http://www.bionet.nsc.ru>.

Автореферат разослан «__» _____ 2015 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор биологических наук

Т.М. Хлебодарова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность и степень разработанности темы исследования. Сохранение и расширение генетического разнообразия мягкой пшеницы является одной из актуальных проблем генетики, биотехнологии и современной селекции. Мягкая пшеница *Triticum aestivum* L. представляет собой природный аллополиплоид (геномная формула $2n=6x=42$, VBAADD) и входит в группу наиболее ценных сельскохозяйственных культур. Значительное снижение урожая и качества зерна этой культуры вызывают листостебельные грибные инфекции, наиболее вредоносными из которых являются болезни ржавчины (бурая и стеблевая) и мучнистая роса. Ежегодные потери урожая в Российской Федерации от этих болезней составляют от 10 до 30%, при этом эти показатели с каждым годом увеличиваются (Пересыпкин, 1979; Санин, Назарова, 2010; Захаренко, 2013).

Одним из наиболее экологически эффективных способов защиты от фитопатогенов является создание сортов с генетической устойчивостью путем интродукции в мягкую пшеницу генов резистентности. Дикие и культурные сородичи мягкой пшеницы и злаки из отдаленных таксономических групп, несмотря на различный уровень гомеологии геномов, регулярно используются в качестве источников новых генов (Friebe et al., 1996; Афанасенко, 2010; McIntosh et al., 2013). Среди сородичей мягкой пшеницы выделяется вид *Triticum timopheevii* Zhuk. (геномная формула $2n=4x=28$, GGA^tA^t), который характеризуется комплексной устойчивостью к грибным патогенам (Жуковский, 1985; Дорофеев и др., 1987). Однако доступность уникального пула эффективных генов иммунитета и перенос этих генов в сорта-реципиенты сопровождается значительными трудностями вследствие стерильности и цитологической нестабильности межвидовых гибридов.

До начала данного исследования в геноме *T. timopheevii* было выявлено пять генов устойчивости к грибным болезням: один ген, определяющий устойчивость к бурой ржавчине (*Lr18*), три гена устойчивости к стеблевой ржавчине (*Sr36*, *Sr37*, *Sr40*) и ген устойчивости к мучнистой росе (*Pm6*) (Allard, Shands, 1954; McIntosh, Guarfas, 1971; Jørgensen, Jensen, 1973; McIntosh, 1983; Dyck, 1992). Однако литературные и собственные данные свидетельствуют, что вид *T. timopheevii* обладает гораздо большим потенциалом и содержит другие, ранее не идентифицированные, гены и QTLs (локусы количественных признаков), обеспечивающие устойчивость мягкой

пшеницы к грибным патогенам (Leonova et al., 2004; Бадаева и др., 2010; Uhrin et al., 2012; Mikó et al., 2013).

В данном исследовании для выявления и идентификации генов резистентности в качестве экспериментальных моделей предложены интрогрессивные линии мягкой пшеницы, содержащие генетический материал разных образцов *T. timopheevii* (Budashkina, Kalinina, 2001; Лайкова и др., 2004). Линии представляют собой геномные библиотеки фрагментов чужеродного материала в генетическом окружении коммерческих сортов мягкой пшеницы (Леонова и др., 2002; Leonova et al., 2007). Интрогрессивные линии были использованы для изучения процессов формообразования и стабилизации гибридного генома в первых поколениях (Калинина и др., 1989; Гордеева и др., 2009). Однако до сих пор открытым оставался ряд вопросов, связанных с идентификацией и локализацией генетических факторов *T. timopheevii*, определяющих устойчивость к грибным болезням, с установлением аллелизма с известными генами и с выявлением ранее неизвестных генов. Также отсутствовала информация о влиянии фрагментов интрогрессий *T. timopheevii*, содержащих гены устойчивости, на хозяйственно-ценные признаки мягкой пшеницы.

Цель исследования. Основной целью исследования являлся генетический анализ факторов, определяющих устойчивость интрогрессивных линий мягкой пшеницы к грибным болезням, и оценка влияния чужеродного генетического материала на хозяйственно-ценные признаки.

В работе были поставлены следующие **задачи**:

1. Изучить генетическое разнообразие коллекции интрогрессивных линий *T. aestivum/T. timopheevii* по микросателлитным (SSR) локусам и устойчивости к грибным болезням в сравнении с исходными сортами мягкой пшеницы.
2. Оценить частоту, хромосомную локализацию и протяженность интрогрессированных фрагментов в геноме линий *T. aestivum/T. timopheevii*.
3. Провести генетическое картирование генов и QTLs, определяющих иммунитет к бурой ржавчине и мучнистой росе у линий *T. aestivum/T. timopheevii* и *T. aestivum – T. timopheevii/Ae. tauschii*.
4. Охарактеризовать интрогрессивные линии *T. aestivum/T. timopheevii* по хозяйственно-ценным признакам.

5. Определить генетическую локализацию локусов, ассоциированных с хозяйственно-ценными признаками у интрогрессивных линий *T. aestivum/T. timopheevii*.
6. Оценить влияние генетического материала *T. timopheevii* на проявление хозяйственно-ценных признаков.
7. С использованием схемы маркер-контролируемого беккроссного отбора создать линии-доноры, содержащие единичные транслокации с главным локусом устойчивости к бурой ржавчине *QLr.icg-5B*, и подобрать SSR-маркеры для последующего переноса локуса в геном восприимчивых форм мягкой пшеницы.

Научная новизна работы. В данном исследовании на примере интрогрессивных линий с генетическим материалом *T. timopheevii* предложена и опробована технология поиска новых локусов устойчивости к грибным болезням, происходящих из генома родичей мягкой пшеницы, и дальнейшего использования этих локусов для получения линий с генетической устойчивостью (рис. 1).



Рисунок 1. Технология создания коммерческих сортов мягкой пшеницы, устойчивых к грибным болезням.

В работе были идентифицированы новые, ранее не известные, гены и QTLs, обеспечивающие устойчивость мягкой пшеницы к бурой ржавчине (*LrTt1*, *LrTt2*, *QLr.icg-1A* и *QLr.icg-2B*) и мучнистой росе (*QPm.icg-6D*), установлен их вклад в фенотипическое проявление признаков устойчивости. Информация о генах *LrTt1* и *LrTt2* внесена в Международный Каталог генных символов (McIntosh et al., 2013).

Впервые проведена сравнительная оценка генетического разнообразия коллекции интрогрессивных линий *T. aestivum*/*T. timopheevii* по геномному составу и устойчивости к бурой ржавчине и мучнистой росе. Установлено влияние генотипической среды сорта-реципиента на число и хромосомную локализацию интрогрессированных фрагментов *T. timopheevii*.

Впервые проведено молекулярно-генетическое картирование локусов, проявляющих ассоциацию с морфологическими признаками и признаками, определяющими продуктивность и длину вегетационного периода у линий *T. aestivum*/*T. timopheevii*. Установлено, что фрагменты интрогрессии в хромосомах 2A, 5B, 6D, содержащие локусы устойчивости к бурой ржавчине и мучнистой росе, не оказывают негативного влияния на признаки продуктивности мягкой пшеницы. Показана эффективность использования SSR-маркеров, фланкирующих главный локус устойчивости к бурой ржавчине *QLr.icg-5B*, для создания линий-доноров локуса и его переноса в восприимчивые формы мягкой пшеницы.

Теоретическая и практическая значимость работы. Полученные в данной работе результаты могут быть использованы: 1) в исследованиях, направленных на понимание механизмов интрогрессии чужеродного генетического материала; 2) для изучения взаимодействия генов и QTLs, контролирующих хозяйственно-ценные признаки; 3) для генетической диссекции количественных признаков.

На основе полученных результатов создана электронная база данных по 48 интрогрессивным линиям мягкой пшеницы с генетическим материалом *T. timopheevii*, которая включает: 1) характеристику линий по устойчивости к грибным болезням; 2) хромосомную локализацию и протяженность фрагментов интрогрессии *T. timopheevii*; 3) локализацию QTLs, контролирующих хозяйственно-ценные признаки; 4) SSR-маркеры, выявляющие ассоциацию с хозяйственно-ценными признаками.

Составлена база данных из 502 SSR-маркеров, в которой представлена информация о полиморфизме, аллельном составе SSR-локусов, длинах фрагментов амплификации для геномов A, A^t, B, G и D у сортов мягкой пшеницы и *T. timopheevii*

var. *viticulosum*. Информация используется для скрининга гибридных форм пшеницы, содержащих чужеродные замещения и транслокации и для паспортизации сортового материала.

Разработана и опробована схема маркер-контролируемого беккроссного отбора для переноса локусов устойчивости к бурой ржавчине в восприимчивые формы мягкой пшеницы. Разработаны способы ускоренного создания линий мягкой пшеницы, устойчивых к бурой ржавчине, с использованием молекулярных маркеров (Патенты на изобретение №2219906; №2407283, №2484621; №2535985). Созданы линии-доноры эффективных генов устойчивости к бурой ржавчине, которые используются для получения устойчивых озимых и яровых сортов мягкой пшеницы.

Методология и методы исследования. При выполнении данной работы предложена технология поиска генов/QTLs устойчивости к грибным болезням, происходящих от родичей мягкой пшеницы (рис. 1). Для выявления генов/QTLs использован комплекс классических и современных методов анализа генома растений: фитопатологическое тестирование, анализ количественных признаков, методы маркер-ориентированной селекции, пакеты программ для картирования генов и QTLs и статистической обработки результатов.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

1. Локусы *LrTt1*, *LrTt2*, *Q_{Lr.icg-1A}* и *Q_{Lr.icg-2B}*, интродуцированные в геном мягкой пшеницы от *T. timopheevii*, обеспечивают эффективную устойчивость мягкой пшеницы к популяции бурой ржавчины *Puccinia triticina* Erik., типичной для Западно-Сибирского региона России, и не идентичны ни одному из известных ранее.
2. Фрагменты интрогрессий *Triticum timopheevii* в хромосомах 2A, 5B и 6D, содержащие генетические факторы, контролирующие устойчивость к бурой ржавчине и мучнистой росе, не оказывают негативного влияния на длину вегетационного периода и признаки, определяющие урожайность мягкой пшеницы.
3. Эффективность создания устойчивых к бурой ржавчине форм мягкой пшеницы в схемах маркер-ориентированной селекции зависит от наличия тесно сцепленных диагностических кодоминантных маркеров, выявляющих гомозиготное

состояние главного локуса устойчивости *QLr.icg-5B* в генотипах мягкой пшеницы.

Степень достоверности результатов. Достоверность результатов определяется достаточным числом многолетних наблюдений и публикациями в международных и отечественных журналах. Достоверность локализации генов и QTLs подтверждена данными, полученными для нескольких картирующих популяций, созданных на основе линий с разным числом и хромосомной локализацией фрагментов *T. timopheevii*. Новизна генов и QTLs подтверждается совокупностью результатов по хромосомной локализации локусов и данными фитопатологических оценок линий.

Апробация работы. Результаты работы были доложены на 4-й конференции по геному растений (Гатерслебен, 1999); 11-й, 12-й конференциях EWAS (Новосибирск, 2000; Норвич, 2002); конференции Московского общества генетиков и селекционеров (Москва, 2003); Международной конференции «Отдаленная гибридизация: современное состояние и перспективы развития» (Москва, 2003); III и VI Съездах ВОГИС (Москва, 2004; Ростов-на-Дону, 2014); Всероссийском съезде по защите растений (Санкт-Петербург, 2005); Всероссийской конференции «Устойчивость растений к неблагоприятным факторам внешней среды» (Иркутск, 2007); Международной конференции «Научное наследие Н.И. Вавилова – фундамент развития отечественного и мирового сельского хозяйства» (Москва, 2007); Всероссийских конференциях «Современные проблемы иммунитета растений к вредным организмам» (Санкт-Петербург, 2008, 2012); II и III Вавиловских международных конференциях (Санкт-Петербург, 2008; 2012); V съезде Вавиловского общества генетиков и селекционеров (Москва, 2009); Международной конференции «Технологии селекции растений (Вена, 2010); 8-й Международной конференции по пшенице (Санкт-Петербург, 2010); Международной конференции «Генетические ресурсы пшеницы и геномика» (Новосибирск, 2011); Международном конгрессе по селекции растений (Анталия, 2013).

Личный вклад автора. Автору принадлежит постановка цели и задач исследования, обработка, интерпретация и обобщение результатов. Молекулярно-генетическая часть выполнена автором самостоятельно. Фитопатологические тесты проведены в сотрудничестве с коллегами из ИЦиГ СО РАН и СибНИИРС (филиала ИЦиГ СО РАН), ФГБУН ВНИИ фитопатологии и зарубежными учеными.

Публикации. Общее число работ по теме диссертации, включая сборники трудов конференций, составляет 51, из них 24 статьи в международных и отечественных журналах (21 статья из списка, рекомендованного Перечнем ВАК РФ) и 4 патента.

Объем и структура работы. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов, обсуждения, заключения, выводов, списка литературы и приложения. Материал диссертации изложен на 343 страницах печатного текста, включает 47 таблиц и 34 рисунка. Список цитированной литературы содержит 641 работу, из них 82 отечественных.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1 является литературным обзором, в котором представлены сведения об использовании пшениц группы *Timopheevi* для расширения генетического разнообразия мягкой пшеницы по генам устойчивости к грибным болезням. Подробно описана хромосомная локализация известных генов устойчивости, интродуцированных в мягкую пшеницу от *T. timopheevii*. Проведен анализ литературы о влиянии чужеродного генетического материала на проявление хозяйственно-ценных признаков. Описаны технологии и схемы маркер-ориентированной селекции (MAS) и их применение для создания новых форм пшеницы с заданными свойствами.

Глава 2. Материалы и методы исследования

В работе использован следующий растительный материал: 1. Интрогрессивные линии *Triticum aestivum/Triticum timopheevii* (BC₁F₁₈₋₂₂), полученные от скрещивания сортов мягкой яровой пшеницы Саратовская 29 (С29), Скала, Иртышанка 10 (Ирт10), Целинная 20 (Ц20) и Новосибирская 67 (Н67) с *Triticum timopheevii* var. *viticulosum*. Стерильные гибриды F₁ были однократно беккроссированы исходным сортом пшеницы с последующим самоопылением потомства BC₁F₁ и других поколений в условиях изоляции. В поколениях BC₁F₄-BC₁F₅ проводился отбор растений по числу хромосом (2n=42) и устойчивости к полевой популяции бурой ржавчины (*Puccinia triticina* Eriks.) (Budashkina, Kalinina, 2001).

2. Интрогрессивные линии *T. aestivum* – *T. timopheevii/Ae. tauschii*, полученные от скрещивания сорта Саратовская 29 и синтетического амфидиплоида *T. timopheevii/Ae. tauschii* с последующим беккроссированием на исходный сорт (Maystrenko et al., 1996; Лайкова и др., 2003). В поколениях BC₂-BC₅ проводился отбор цитологически стабильных форм (2n=42) и отбор на устойчивость к бурой ржавчине

(Лайкова и др. 2004). В работе использованы линии поколений BC₅F₅, BC₅F₆, BC₆F₁, BC₆F₄, BC₈F₇ и BC₉F₄.

3. Популяции для картирования генов/QTLs, созданные на основе скрещивания интрогрессивных линий *T. aestivum*/*T. timopheevii* л. 842-1 (370 растений), л. 842-2 (148 растений), л. 832-2 (111 растений) и *T. aestivum* – *T. timopheevii*/*Ae. tauschii* BC₅ и BC₉ (по 109 растений) с сортом пшеницы Скала. Растения F₂ использованы для генотипирования маркерами, семейства F₃₋₄ для фенотипической оценки признаков.

Геномную ДНК выделяли из 5-7-дневных проростков по методу Plaschke с соавт. (1995). Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили согласно протоколу Röder с соавт. (1998). Разделение продуктов ПЦР выполняли на автоматических лазерных флуоресцентных секвенаторах ALF и ALFexpress с использованием SequaGel XR для секвенатора ALF и ReproGel™ High Resolution для ALFexpress. В работе использованы SSR-маркеры *Xgwm* (Ganal, Röder, 2007), *Xgdm* (Pestsova et al., 2000), *Xbarc* (Song et al., 2002), *Xwmc* (Gupta et al., 2002), *Xcfd* (Guyomarc'h et al., 2002) и маркеры к генам запасных белков *Taglgap* и *Taglut* (Devos et al., 1995).

Восприимчивость растений к бурой ржавчине (патоген *Puccinia triticina* Eriks.) и мучнистой росе (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*) на стадии взрослых растений оценивали в полевых условиях Новосибирской области на инфекционных участках ИЦиГ СО РАН. Для создания инфекционного фона к мучнистой росе делянки располагались между полосами восприимчивых к болезням сортов озимой пшеницы. Для оценки восприимчивости к бурой ржавчине создавали дополнительный фон путем инокуляции суспензией спор рас гриба местной популяции. Устойчивость к мучнистой росе определяли по модифицированной шкале Саари и Прескотта (Захаренко и др., 2000), к бурой ржавчине по шкале иммунности Майнса и Джексона (1926) и модифицированной шкале Кобба (Peterson et al., 1948).

Оценку восприимчивости интрогрессивных линий к бурой ржавчине на стадии проростков проводили с использованием метода отсеченных листьев (Михайлова, Квитко, 1970). Тестирование картирующих популяций F₃, на ювенильной стадии проводили по методу Roelfs с соавт. (1992). Растения в возрасте 1-2-х листьев инокулировали смесью тест-изолятов, содержащих комбинации рас, вирулентных к генам *Lr1*, *2a*, *2b*, *2c*, *3bg*, *3ka*, *10*, *11*, *13*, *14a*, *14b*, *15*, *16*, *17*, *18*, *20*, *21*, *23*, *26*, *27*, *28*, *30*, *31*, *32*, *33*, *35*, *37*, *38*, *49*, *40*, *44*, *B*. Сравнительный анализ восприимчивости линии

842-2 и изогенной линии Тэтчер (RL6009), содержащей ген *Lr18*, проводили с помощью тест-изолятов бурой ржавчины 7147661074, 7747660174, 263701675, вирулентных к гену *Lr18*. Обозначение изолятов соответствует восьмеричной номенклатуре J. Gilmour (1973).

Для построения генетических карт хромосом и картирования генов использовали программу MAPMAKER/Exp v. 3.0b (Lander et al., 1987). Генетические дистанции рассчитывали в сантиморганах (сМ) с использованием функции Косамби (Kosambi, 1944). Локализацию QTLs проводили с помощью программ MapManager QTX v. b20 (Manly et al., 2001) и QTLCartographer v. 2.5-011 (Wang et al., 2012). Уровень статистической достоверности LRS (likelihood ratio statistics) рассчитывали с помощью метода перестановки для 1000 итераций. Вклад QTL в фенотипическое проявление признака (R^2) рассчитывался на основании коэффициентов регрессии для каждой комбинации маркер/фенотип. При картировании учитывались QTLs, которые выявлялись по результатам не менее 2-х полевых сезонов и с $LRS \geq 9.2$. Для кластерного анализа применяли пакет программ NTSYS-pc 2.11Q (Rohlf, 1998) с использованием алгоритма UPGMA. Величину генетического разнообразия оценивали по индексу Н, рассчитанного по формуле Нэя: $H = 1 - \sum x_{ik}^2$, где x_i – частота аллеля, k – число аллелей (Nei, 1973).

Сравнение интрогрессивных линий и исходных сортов по хозяйственно-ценным признакам (период всходы-колошение, высота растения, число продуктивных побегов, длина колоса, число колосков и зерен в колосе, масса зерна с колоса и растения и масса 1000 зерен) проводили с помощью дисперсионного анализа, достоверность различий оценивали по критерию Фишера (F). Статистическая обработка выполнялась с помощью пакета программ STATISTICA v. 7.0.

Глава 3. Результаты исследования

3.1. Молекулярно-генетическое разнообразие интрогрессивных линий *T. aestivum*/*T. timopheevii*. В работе изучено молекулярно-генетическое разнообразие 36 интрогрессивных линий *T. aestivum*/*T. timopheevii* по SSR-локусам и устойчивости к грибным болезням. Мониторинг устойчивости линий и родительских сортов к популяциям бурой ржавчины и мучнистой росы Западно-Сибирского региона РФ, проводился в поколениях BC₁F₇₋₂₂ с 1997 по 2014 гг. (Леонова и др., 2002, 2014). В зависимости от года тестирования уровень резистентности большинства линий к

бурой ржавчине варьировал от иммунного (балл 0) до среднеустойчивого (балл 2) (табл. 1).

Таблица 1. Мониторинг устойчивости линий <i>T. aestivum</i> / <i>T. timopheevii</i> к бурой ржавчине и мучнистой росе (1997 – 2014 гг.)			
Родительский сорт мягкой пшеницы	№ линии	Тип реакции (баллы по шкале иммунности)	
		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	7-6/8-9
	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

Линии, происходящие от разных сортов, по степени устойчивости к бурой ржавчине располагались в следующей последовательности: л. С29 > л. Ирт10 > л. Скала > л. Ц20 > л. Н67. Оценка восприимчивости к мучнистой росе показала, что 13 линий из 36 проявляли высокоустойчивый тип реакции (балл 9-8) во все годы проведения испытаний. У остальных тип реакции варьировал от среднечувствительного до среднеустойчивого. Для родительских сортов была характерна высокая восприимчивость к грибным патогенам. Полученные результаты свидетельствуют, что иммунитет, сформировавшийся в первых поколениях отбора линий на устойчивость к бурой ржавчине, стабильно сохраняется в течение длительного времени, при этом ряд линий характеризуются комплексной устойчивостью к грибным болезням.

Генетическое разнообразие по

SSR-локусам исследовалось с использованием 161 локуса *Xgwm* и *Xgdm*, картированных в геноме *T. aestivum* и *T. timopheevii* (Salina et al., 2006; Ganal, Röder,

2007). По результатам спектров ПЦР у интрогрессивных линий выявлен 521 аллель (3.24 аллеля на локус, в среднем), что было значительно выше по сравнению с родительскими сортами (440 аллелей, 2.73 аллеля на локус). Индекс генетического разнообразия H был также, в среднем, выше у интрогрессивных линий (0.47 ± 0.018) по сравнению с родительскими сортами пшеницы (0.42 ± 0.019), при этом геномы D сортов и линий были сравнимы, тогда как индексы H для геномов А и В были выше у интрогрессивных линий.

Кластерный анализ, выполненный на основе данных генотипирования, установил, что все линии распадаются на 5 групп согласно их происхождению от сорта мягкой пшеницы, при этом наблюдалось низкое генетическое сходство с родительской формой *T. timopheevii* var. *viticulosum* (рис. 2).

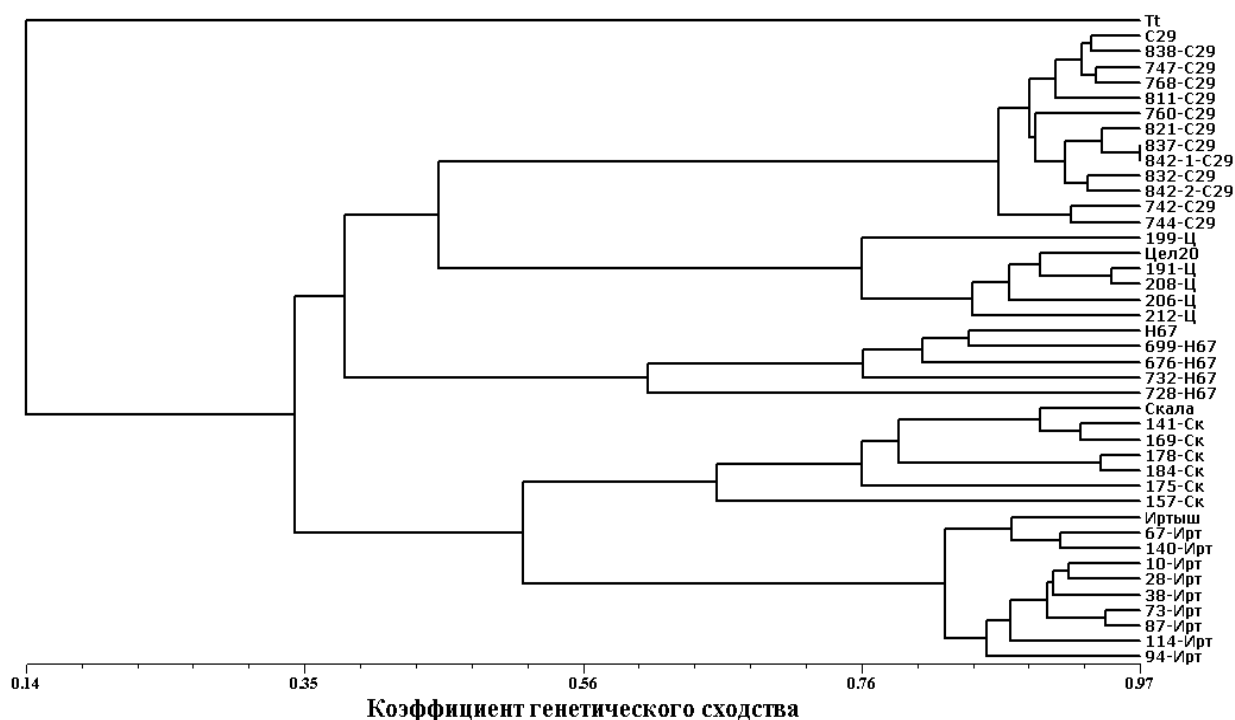


Рисунок 2. Дендрограмма генетического сходства интрогрессивных линий *T. aestivum*/*T. timopheevii* и родительских сортов мягкой пшеницы. Сорт мягкой пшеницы, участвующий в гибридизации, указан справа от номера линии.

По результатам генотипирования интрогрессивных линий хромосомы, содержащие генетический материал *T. timopheevii*, были условно разделены на две группы. В первую группу вошли хромосомы 1А, 2А, 2В, 5А, 5В и 6В, где интрогрессии выявлялись с высокой частотой у большинства линий (рис. 3). К другой группе были отнесены хромосомы 1В, 3А, 3В, 4В и 7А, где интрогрессии встречались с низкой частотой и у ограниченного числа линий. Молекулярным анализом не выявлено изменений в спектрах амплификации маркеров, специфичных для хромосом 4А, 6А и 7В у всех исследованных линий *T. aestivum*/*T. timopheevii*.

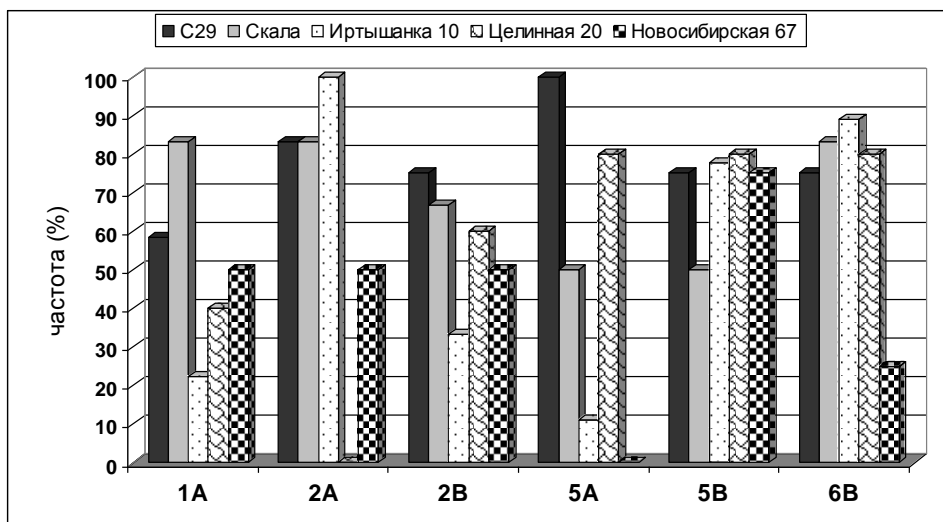


Рисунок 3. Частота встречаемости генетического материала *T. timopheevii* в хромосомах 1A, 2A, 2B, 5A, 5B и 6B интрогрессивных линий (Leonova et al., 2010b, 2011).

Анализ хромосомной локализации фрагментов интрогрессии показал, что линии, полученные на основе разных сортов мягкой пшеницы, отличаются как спектром замещений и транслокаций, так и их числом. Так, у всех линий сорта Целинная 20 не выявлено изменений в спектрах SSR-маркеров, специфичных для хромосомы 2A, а у линий сорта Новосибирская 67 не обнаружено интрогрессий в хромосоме 5A (рис. 3). Число фрагментов интрогрессии варьировало от трех до девяти, при этом линии располагались в следующей последовательности: л. С29 (5.7 фрагментов, в среднем) > л. Скала (4.5) > л. Ирт10 (4.3) > л. Ц20 (4.1) > л. Н67 (4.0).

Для большинства линий, содержащих интрогрессии в хромосомах генома В характерно наличие протяженных фрагментов, захватывающих оба плеча хромосомы. В то время как в хромосомах генома А присутствуют более короткие фрагменты, не превышающие $\frac{1}{4}$ длины плеча хромосомы (рис. 4) (Леонова и др., 2002; Timonova et al., 2013). Микросателлитным анализом не установлено межсортовых различий по протяженности интрогрессированного генетического материала *T. timopheevii*.

3.2. Локализация локусов, определяющих устойчивость к грибным патогенам

Картирование локусов *Lr*, контролирующих устойчивость к бурой ржавчине

Локализация локусов устойчивости к бурой ржавчине проводилась с использованием линий двух коллекций - *T. aestivum/T. timopheevii* и *T. aestivum-T. timopheevii/Ae. tauschii*, содержащих генетический материал разных образцов *T. timopheevii*. Для создания картирующих популяций из коллекции *T. aestivum/T. timopheevii* было отобрано три линии (842-1, 842-2 и 832-2), отличающихся числом фрагментов интрогрессии и устойчивостью к бурой ржавчине на разных стадиях развития (табл. 2).

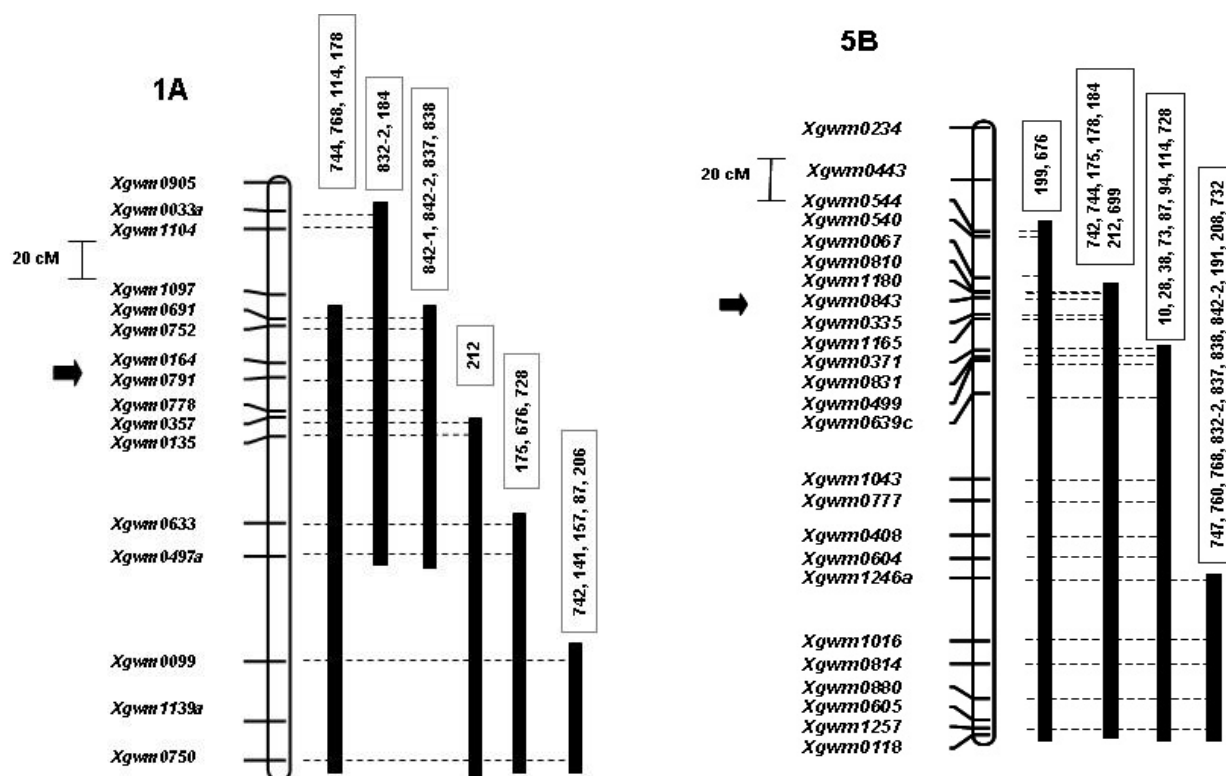


Рисунок 4. Схематическая иллюстрация локализации фрагментов *T. timopheevii* в хромосомах 1А и 5В интрогрессивных линий *T. aestivum*/*T. timopheevii*. Черные блоки указывают протяженность фрагментов интрогрессии, номера линий помещены над блоками. Порядок маркеров соответствует генетическим картам хромосом *T. aestivum* и *T. timopheevii* (Ganal, Röder, 2007; Salina et al., 2006). Стрелками указано вероятное положение центромеры.

Таблица 2. Характеристика линий 842-1, 842-2 и 832-2 (<i>T. aestivum</i> / <i>T. timopheevii</i>) по устойчивости к бурой ржавчине и локализации фрагментов интрогрессии			
Линии	Устойчивость к бурой ржавчине (тип реакции, баллы)		Хромосомная локализация
	проростки	взрослые растения	
842-1	2	1/2	1А, 2А, 5А
842-2	0	0/1	1А, 2А, 2В, 5А, 5В, 6В
832-2	0	0/1	1А, 2А, 2В, 3В, 4В, 5А, 5В, 6В, 6D

Для генотипирования индивидуальных растений картирующих популяций F₂, полученных на основе линий 832-2 и 842-2, использовали 150 полиморфных *Xgwm*, *Xgdm*, *Xbarc* и *Xwmc* маркеров, локализованных в хромосомах, содержащих фрагменты интрогрессии. Интервальное картирование выявило три локуса с различным вкладом и достоверностью в фенотипическое проявление признака устойчивости (табл. 3, рис. 5).

Таблица 3. Хромосомная локализация локусов <i>Lr</i> , определяющих устойчивость интрогрессивных линий 832-2 и 842-2 к бурой ржавчине			
Статистика	Хромосома/интервалы маркеров		
	1A	2A	5B
	<i>Xgwm778-Xgwm633</i>	<i>Xgwm71b-Xgwm312</i>	<i>Xgwm408-Xgwm1257</i>
R ²	5.0 ^a /10.0 ^b	7.0 ^a /11.0 ^b	72.0 ^a /80.0 ^b
LRS	8.5*/11.6**	18.9/13.6***	186.0/122.0****

результаты картирования для линий 842-2^a и 832-2^b получены на основании данных фитопатологических тестов двух полевых сезонов. R² – вклад локуса (%) в фенотипическое проявление признака; LRS - статистика отношения правдоподобия; *p<0.05, ***p<0.001, **** p<0.0001.

Главный локус *QLr.icg-5B*, расположенный в хромосоме 5B между маркерами *Xgwm408* и *Xgwm1257*, определял до 80% фенотипического проявления признака. Локус *QLr.icg-2A*, картированный в хромосоме 2A между маркерами *Xgwm71b* и *Xgwm312*, контролировал не более 11% проявления признака. Третий локус *QLr.icg-1A*, определяющий до 10% признака устойчивости, выявлен в хромосоме 1A с максимумом проявления вблизи *Xgwm633* (Леонова и др., 2008; Leonova et al., 2011).

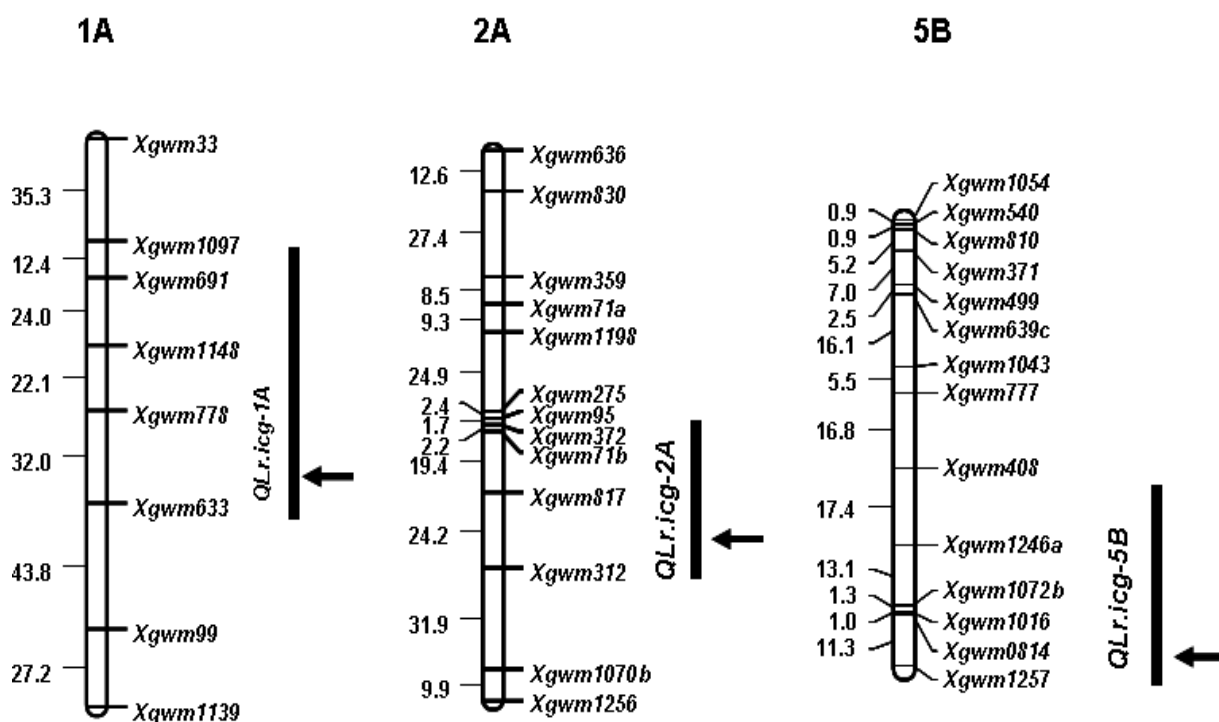


Рисунок 5. Локализация локусов *Lr* на генетических картах хромосом 1A, 2A и 5B линии 832-2. Справа от хромосомы указаны SSR-маркеры, слева – расстояние в сМ. Черный блок показывает протяженность фрагмента интрогрессии, стрелка - наиболее вероятное положение локуса.

Более точная локализация локуса *QLr.icg-2A* проведена с использованием линии 842-1, содержащей три фрагмента интрогрессии в хромосомах 1A, 2A и 5A. Ген *Lr*, происходящий из хромосомы 2A^t, был картирован с помощью программы MAPMAKER между маркерами *Xgwm817* и *Xgwm312* на расстоянии 12.9 и 11.3 сМ, соответственно, и обозначен символом *LrTt1*. Картирование главного локуса *QLr.icg-5B* установило, что ген, обозначенный *LrTt2*, находится между маркерами *Xgwm814* и *Xgwm1257* и происходит из хромосомы 5GL *T. timopheevii*. (Leonova et al., 2004, 2011).

Ранее в хромосоме 5BL мягкой пшеницы был идентифицирован ген *Lr18*, перенесенный от *T. timopheevii* ssp. *timopheevii* (McIntosh, 1983). Для выяснения вопроса является ли ген *LrTt2* новым геном, линия 842-2 и изогенная линия сорта Тэтчер (RL6009) с геном *Lr18* были проверены на восприимчивость к трем изолятам *Puccinia triticina*, вирулентных к гену *Lr18* (7147661074, 7747660174, 263701675). Результаты показали, что линия 842-2 проявляет более устойчивый тип реакции по сравнению с RL6009 ко всем тест-изолятам (Leonova et al., 2010).

Дополнительная характеристика линий с помощью SSR-маркеров, специфичных для хромосомы 5B, установила, что RL6009 и 842-2 отличаются как точками транслокации, так и длиной фрагментов ПЦР маркеров *Xgwm814* и *Xgwm1257*, фланкирующих ген *LrTt2* (табл. 4). Полученные результаты позволили сделать заключение, что ген *LrTt2* является новым, более эффективным, чем *Lr18*, геном, унаследованным из хромосомы 5GL *T. timopheevii* var. *viticulosum*.

Таблица 4. Длины фрагментов ПЦР SSR-маркеров, специфичных для хромосомы 5B, у линий 842-2, RL6009, *T. timopheevii* var. *viticulosum* и сортов С29 и Тэтчер

SSR-маркер	Размер фрагмента ПЦР (п. н.)		
	<i>T. timopheevii</i> var. <i>viticulosum</i>	линия 842-2/С29	‘RL6009’/Тэтчер
<i>Xgwm408</i>	178	178/182	180/180
<i>Xgwm604</i>	null	null/113	118/118
<i>Xgwm1246</i>	223	223/236	232/232
<i>Xgwm1072</i>	180	180/195	180/195
<i>Xgwm814</i>	null	null/145	126/145
<i>Xgwm1257</i>	263	263/246	260/262

Генетическое картирование локусов *Lr*, определяющих устойчивость к бурой ржавчине линий *T. aestivum* – *T. timopheevii*/*Ae. tauschii*, выполнено с использованием поколений ВС₅ и ВС₉. Предварительное генотипирование потомства разных

беккроссов с помощью 235 полиморфных *Xgwm* маркеров показало присутствие генетического материала синтетической пшеницы в хромосомах 1D, 2D, 2B и 6B (рис. 6; Leonova et al., 2007). Число фрагментов интрогрессии уменьшалось по мере увеличения числа беккроссов (четыре фрагмента у линий BC₅, три – в потомстве BC₆ и по одному фрагменту у потомков BC₈ и BC₉). Сравнение длин фрагментов ПЦР беккроссных линий и родительских образцов свидетельствует, что замещения по хромосомам генома D относятся к фрагментам *Ae. tauschii*, тогда как B-геномные транслокации представляют собой фрагменты *T. timopheevii*.

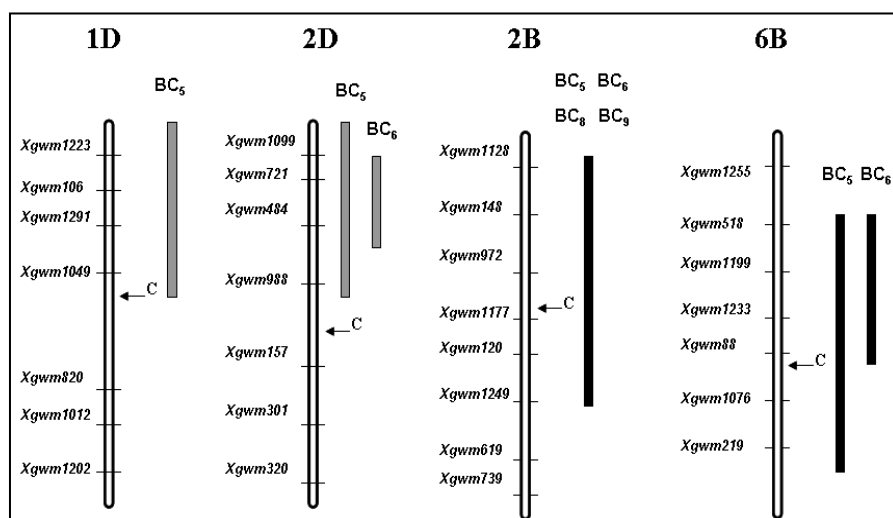


Рисунок 6. Графическая презентация локализации и длины фрагментов *T. timopheevii* (черные блоки) и *Ae. tauschii* (серые блоки) у беккроссных линий. С – вероятное положение центромеры.

Линия BC₅, использованная для картирования локусов *Lr*, имела 4 чужеродных фрагмента - два от *Ae. tauschii* (хромосомы 1D и 2D) и два от *T. timopheevii* (2B и 6B), линия BC₉ – единичный фрагмент *T. timopheevii* в хромосоме 2B. Интервальное картирование показало, что у линии BC₅ две хромосомы (2B и 2D) содержат генетические факторы, определяющие устойчивость к бурой ржавчине, при этом наиболее высокий вклад ($R^2=31$) вносит локус *QLr.icg-2B*, происходящий из хромосомы 2G *T. timopheevii* (табл. 5). Второй локус, *QLr.icg-2D*, картированный в хромосоме 2DS, унаследован от *Ae. tauschii* и определяет до 19% фенотипического проявления признака. Картирование, проведенное с использованием линии BC₉, подтвердило наличие в хромосоме 2BS локуса *Lr*, унаследованного от *T. timopheevii*, вклад которого в фенотипическое проявление признака составляет более 50%.

Распределение вероятности ассоциаций маркер-признак в хромосоме 2BS у BC₅ и BC₉ показало почти идентичное их положение, что позволяет сделать предположение о том, что контроль устойчивости к бурой ржавчине у этих линий осуществляется одним и тем же генетическим фактором.

Таблица 5. Локусы <i>Lr</i> , определяющие устойчивость линий BC ₅ и BC ₉ к бурой ржавчине на стадии взрослых растений			
Статистика	линия BC ₅		линия BC ₉
	локус/интервал маркеров		
	<i>QLr.icg-2B/</i> <i>Xgwm257-Xgwm120</i>	<i>QLr.icg-2D/</i> <i>Xgwm1099-Xgwm484</i>	<i>QLr.icg-2B/</i> <i>Xgwm257-Xgwm1177</i>
R ²	31	19	57
LRS	41.2***	22.7**	44.7***

R² – вклад локуса (в %) в фенотипическое проявление признака; LRS - статистика отношения правдоподобия; **p<0.01, ***p<0.001.

Картирование локусов устойчивости к мучнистой росе (*Pm*) у интрогрессивных линий *T. aestivum/T. timopheevii*

Для выявления QTLs, проявляющих ассоциацию с устойчивостью линий *T. aestivum/T. timopheevii* к мучнистой росе, была использована картирующая популяция, созданная на основе линии 832-2. По результатам двух полевых сезонов в районе фрагмента транслокации длинного плеча хромосомы 6D был картирован локус *QPm.icg-6D*, который вносит основной вклад в устойчивость к мучнистой росе. Локус расположен между SSR-маркерами *Xgwm732a* и *Xgwm582a*, с максимумом проявления вблизи *Xgwm1103* и определяет до 39% признака (рис. 7).

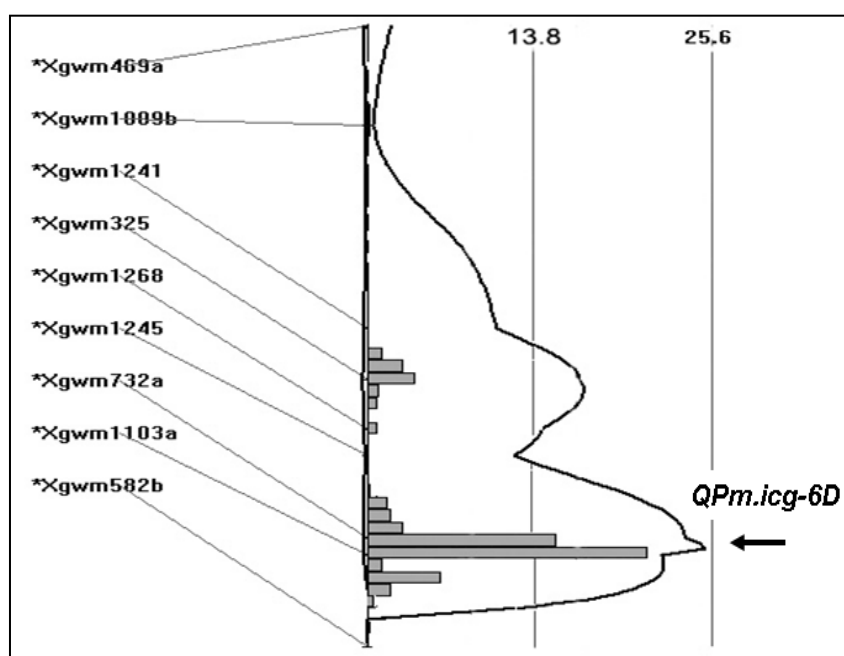


Рисунок 7. Вероятность распределения ассоциаций маркер-признак для устойчивости к мучнистой росе линии 832-2. Вертикальные линии и цифры над ними обозначают уровни достоверности (LRS>13.8 p<0.001; LRS>25 p<0.0001). Результаты бутстрэп-анализа представлены в виде гистограммы.

Известно, что для устойчивых к грибным патогенам линий мягкой пшеницы, полученных от скрещивания с пшеницами группы *Timopheevi*, характерна повышенная частота замещений и транслокаций с участием хромосом 6B и 6G (*Järve*

et al., 2000; Бадаева и др., 2010). В данном исследовании регрессионным анализом не было выявлено ассоциаций SSR-маркеров, специфичных для хромосомы 6G *T. timopheevii* с устойчивостью к мучнистой росе. Анализ продуктов ПЦР, полученных с использованием маркеров, картированных в хромосомах 6-й гомеологической группы *T. aestivum* и хромосом 6A^t и 6G *T. timopheevii*, позволяет сделать вывод, что локус *QPm.icg-6D*, расположенный в районе фрагмента транслокации 6DS.6DL-6A^tL, перенесен из хромосомы 6A^t *T. timopheevii*.

3.3. Влияние чужеродного хроматина на проявление хозяйственно-ценных признаков у интрогрессивных линий *T. aestivum*/*T. timopheevii*

Для молекулярно-генетического картирования QTLs, проявляющих ассоциацию с хозяйственно-ценными признаками, интрогрессивные линии и исходные сорта были предварительно охарактеризованы по комплексу признаков. Оценка высоты растения, числа продуктивных побегов, длины колоса, числа колосков и зерен в колосе, массы зерна с колоса и с растения и массы 1000 зерен проводилась течение трех полевых сезонов (2000, 2003 и 2007 гг.), периода всходы-колошение в 2013-2014 гг. Полученные результаты выявили как положительные, так и отрицательные тенденции изменения признаков у интрогрессивных линий по сравнению с исходными сортами.

Тенденция снижения высоты растений отмечена для большинства линий всех комбинаций скрещивания, при этом достоверное снижение высоты (в среднем, на 8-10 см) показано для групп, происходящих от сортов Иртышанка 10 и Целинная 20. Увеличение числа продуктивных побегов (на 24%, в среднем), числа колосков в колосе (8%) и массы зерна с растения (35%) установлено для комбинации скрещивания сорта Скала.

Из негативных эффектов отмечено снижение продуктивности колоса в группах, происходящих от сортов Целинная 20 и Новосибирская 67. Для линий сорта Целинная 20 показано уменьшение числа колосков и зерен в колосе, в среднем, по комбинации скрещивания, на 10 и 15%, соответственно. Для линий сорта Новосибирская 67 снижение массы зерна с колоса составляло 20%, в среднем. В то же время для этих комбинаций скрещивания не выявлено достоверных отличий от исходных родительских сортов по признаку масса 1000 зерен.

Для большинства интрогрессивных линий *T. aestivum*/*T. timopheevii* было показано, что они отличаются от исходных сортов более длинным периодом всходы-

колошение, при этом для линий, полученных на основе сортов Саратовская 29 и Скала, различия в сроках колошения составляли от 5 до 8 дней (рис. 8).

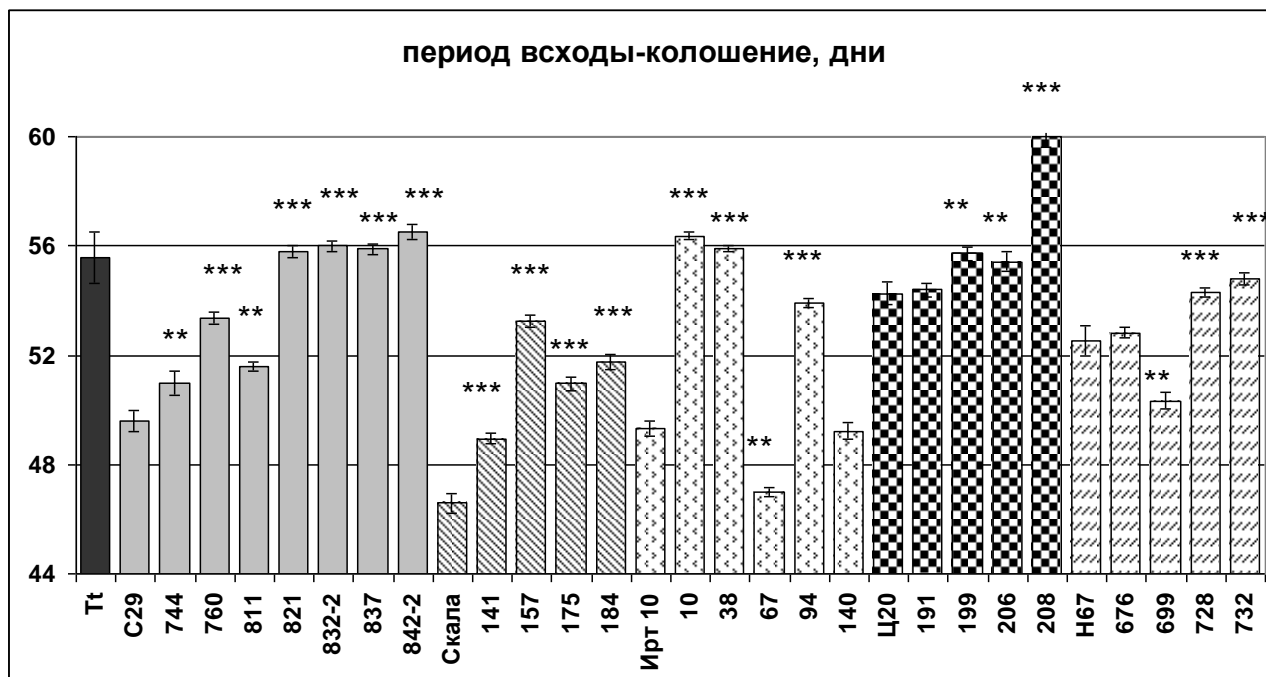


Рисунок 8. Характеристика интрогрессивных линий *T. aestivum*/*T. timopheevii* и родительских сортов мягкой пшеницы по длине периода всходы-колошение. Звездочкой отмечены линии, достоверно отличающиеся от исходных сортов (** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

Для картирования QTLs, проявляющих ассоциацию с хозяйственно-ценными признаками, была использована популяция, полученная на основе интрогрессивной линии 832-2, содержащей множественные фрагменты генетического материала *T. timopheevii* (табл. 2). Построение молекулярно-генетических карт хромосом линии 832-2 проводили с помощью 502 маркеров *Xgwm*, *Xbarc*, *Xwmc*, *Xcfd*, *Taglgap* и *Taglut* с известной локализацией на консенсусных картах хромосом *T. aestivum* и картах *T. timopheevii* (Somers et al., 2004; Salina et al., 2006; Ganal, Röder, 2007). Суммарная длина генетических карт 21 хромосомы линии 832-2 составила 3721.9 сМ, карты включают 264 SSR-локуса со средней дистанцией между ними 14.1 сМ.

По результатам изучения хозяйственно-ценных признаков у картирующей популяции F_{3-4} в течение трех полевых сезонов (2007, 2009, 2012) в геноме линии 832-2 было локализовано 63 QTLs, включая локусы устойчивости к бурой ржавчине и мучнистой росе. Наибольшее число локусов выявлено в хромосомах 2-й и 5-й гомеологичных групп (рис. 9), а также в хромосомах 3D, 4B, 6D и 7B.

Результаты свидетельствуют, что ряд локусов, проявляющих ассоциацию с разными признаками, расположены в одних и тех же районах хромосом и интервалах

SSR-маркеров. К таким локусам относятся QTLs для признаков число зерен в колосе, масса зерна с колоса и масса 1000 зерен (2AL, 5BL, 7AL), число продуктивных побегов, масса зерна с колоса и масса 1000 зерен (3DL), масса зерна с колоса и масса зерна с растения (6DL), число продуктивных побегов, масса зерна с растения и масса 1000 зерен (7BS). Совпадение по локализации QTLs отмечается для периода всходы-колошение и высоты растения (2BS, 2DS, 4BL, 5AL, 6AL). Полученные результаты позволяют предположить, что одни и те же генетические факторы могут принимать участие в контроле этих признаков.

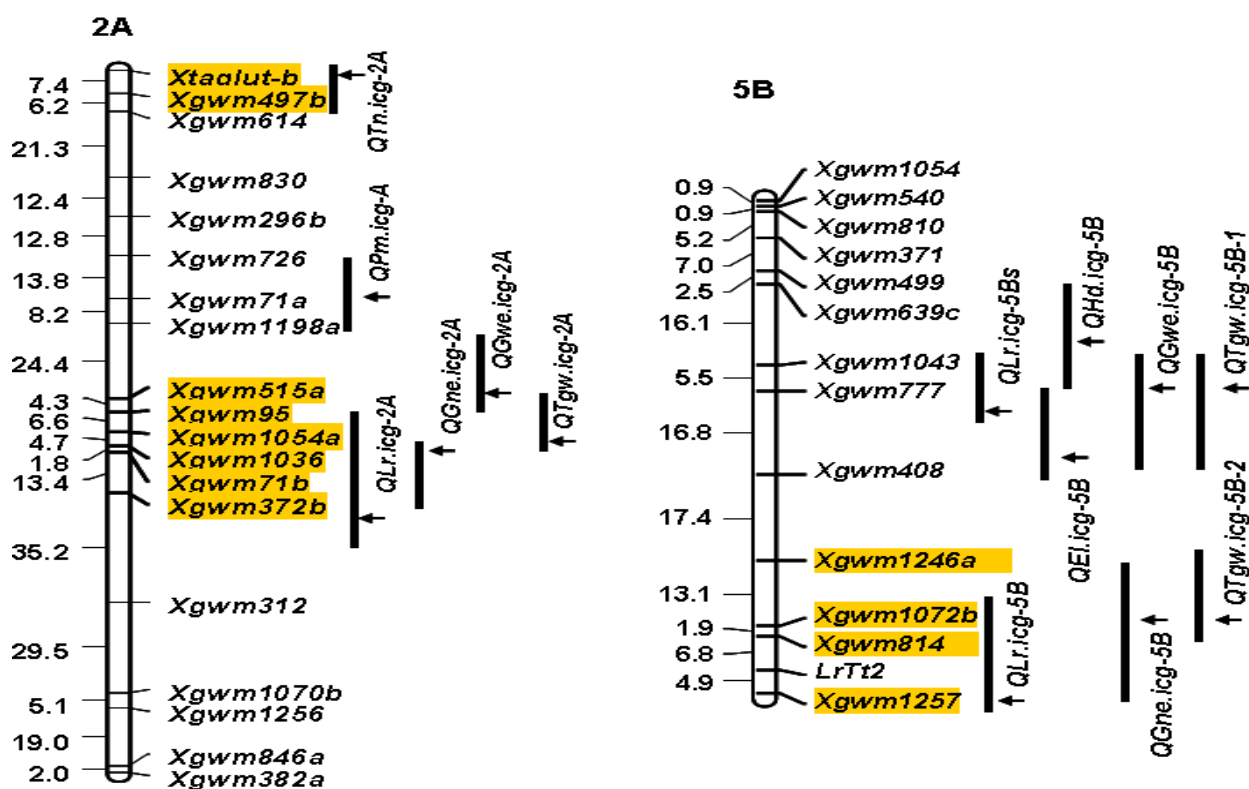


Рисунок 9. Молекулярно-генетические карты хромосом 2А и 5В линии 832-2. Цветом отмечены SSR-локусы, амплифицирующие фрагменты, специфичные для *T. timopheevii*. Черные блоки обозначают интервал распределения ассоциаций маркер-признак, стрелка – наиболее вероятное положение QTL. Обозначение для локусов представлено в таблице 6.

В районах локализации генетического материала *T. timopheevii* было картировано 24 QTLs, из которых положительный эффект выявлен для 19, включая локусы устойчивости к грибным болезням (табл. 6). По результатам картирования было установлено, что фрагмент интрогрессии в хромосоме 1А, дополнительно к локусу устойчивости к бурой ржавчине *QLr.icg-1A*, содержит QTL (*QTn.icg-1A*), оказывающий отрицательный аддитивный эффект на число продуктивных побегов.

Таблица 6. Список QTLs, ассоциированных с хозяйственно-ценными признаками у интрогрессивной линии 832-2, расположенных в районах локализации фрагментов интрогрессии *T. timopheevii*

Признак	QTL	Хромо-сома	Ближайший маркер	R ² /LRS	Add
Устойчивость к бурой ржавчине (<i>Lr</i>)	<i>QLr.icg-1A</i> ⁰⁷⁰⁹	1A	<i>Xgwm633</i>	4.0/13.5**	0.33
	<i>QLr.icg-2A</i> ⁰⁷⁰⁹	2A	<i>Xgwm372b</i>	10.0/13.1**	0.37
	<i>QLr.icg-5B</i> ⁰⁷⁰⁹	5B	<i>Xgwm1257</i>	80.0/122.0****	1.77
Устойчивость к мучнистой росе (<i>Pm</i>)	<i>QPm.icg-6D</i> ⁰⁹¹²	6D	<i>Xgwm1103a</i>	39.0/24.0****	0.93
Период всходы-колошение (Hd)	<i>QHd.icg-2B</i> ⁰⁷⁰⁹	2B	<i>Xgwm1067</i>	36.2/63.0****	1.66
	<i>QHd.icg-4B</i> ⁰⁷	4B	<i>Xgwm375</i>	11.4/12.8****	-0.33
	<i>QHd.icg-5A</i> ⁰⁷⁰⁹	5A	<i>Xgwm126</i>	2.5/9.5**	0.41
Число продуктивных побегов (Tn)	<i>QTn.icg-1A</i> ⁰⁷⁰⁹¹²	1A	<i>Xbarc263</i>	5.0/11.7****	-0.40
	<i>QTn.icg-2A</i> ⁰⁹¹²	2A	<i>Xtaglut-b</i>	14.5/14.5****	0.27
	<i>QTn.icg-2B</i> ⁰⁹¹²	2B	<i>Xgwm1198b</i>	10.0/12.0****	0.23
	<i>QTn.icg-5A</i> ⁰⁷¹²	5A	<i>Xgwm126</i>	17.1/13.4****	0.27
Высота растения (Ht)	<i>QHt.icg-2B</i> ⁰⁷⁰⁹	2B	<i>Xgwm1177</i>	7.0/47.1****	-2.6
	<i>QHt.icg-4B-2</i> ⁰⁹¹²	4B	<i>Xgwm149</i> ⁰⁹¹²	11.9/14.6****	-3.45
	<i>QHt.icg-5A</i> ⁰⁹¹²	5A	<i>Xgwm126</i>	5.9/16.5****	-1.05
	<i>QHt.icg-6D-2</i> ⁰⁹¹²	6D	<i>Xgwm1103</i> ⁰⁹¹²	7.8/15.7****	-1.85
Число колосков в колосе (Spn)	<i>QSpn.icg-2B</i> ⁰⁷⁰⁹	2B	<i>Xgwm1067</i>	12.0/17.6****	0.49
	<i>QSpn.icg-4B</i> ⁰⁷⁰⁹	4B	<i>Xgwm538</i>	11.0/11.0**	-0.79
	<i>QSpn.icg-5A</i> ⁰⁷⁰⁹¹²	5A	<i>Xgwm126</i>	13.0/24.1****	-0.74
Число зерен в колосе (Gne)	<i>QGne.icg-2A</i> ⁰⁹¹²	2A	<i>Xgwm71b</i>	16.2/14.7****	2.3
	<i>QGne.icg-5B</i> ⁰⁷⁰⁹	5B	<i>Xgwm1072b</i>	14.0/23.2****	3.91
Масса зерна с колоса (Gwe)	<i>QGwe.icg-2A</i> ⁰⁹¹²	2A	<i>Xgwm515a</i>	3.2/9.7**	0.01
Масса зерна с растения (Gwr)	<i>QHt.icg-5A</i> ⁰⁷⁰⁹	5A	<i>Xgwm982a</i>	64.0/11.7**	1.04
Масса 1000 зерен (Tgw)	<i>QTgw.icg-2A</i> ⁰⁷¹²	2A	<i>Xgwm1036</i>	30.0/17.6****	2.15
	<i>QTgw.icg-5B-2</i> ⁰⁷⁰⁹	5B	<i>Xgwm1072b</i>	6.7/9.6**	2.55

LRS – статистика отношения правдоподобия; R² – вклад локуса (в %) в фенотипическое проявление признака, рассчитанный на основании регрессионного анализа ассоциаций маркер – признак; Add – аддитивный эффект; ⁰⁷⁰⁹¹² – полевой сезон; **p<0.01, ***p<0.001, ****p<0.0001.

В хромосоме 2A в районе локализации другого локуса устойчивости к бурой ржавчине *QLr.icg-2A* были картированы QTLs, оказывающие положительный аддитивный эффект на число зерен в колосе (*QGne.icg-2A*), массу зерна с колоса

(*QGwe.icg-2A*) и массу 1000 зерен (*QTgw.icg-2A*). Фрагмент транслокации в хромосоме 5BL с главным локусом *Q_{Lr}.icg-5B*, оказывал положительное влияние на число зерен в колосе и массу 1000 зерен. Фрагмент транслокации в длинном плече хромосомы 6D, кроме локуса *Q_{Pm}.icg-6D*, определяющего устойчивость интрогрессивной линии к мучнистой росе, содержит генетический фактор (*Q_{Ht}.icg-6D-2*), который вызывает уменьшение высоты растения.

Полученные результаты позволяют заключить, что фрагменты интрогрессии в хромосомах 2A, 5B и 6D, содержащие локусы, контролирующие устойчивость к грибным патогенам, не содержат генетических факторов, отрицательно влияющих на продолжительность вегетационного периода и продуктивность мягкой пшеницы.

Негативное влияние на сроки колошения установлено для локусов, картированных в районе фрагментов транслокации в хромосомах 2BS и 5AL, при этом наибольший вклад (36%) в фенотипическое проявление этого признака оказывал локус *Q_{Hd}.icg-2B*, расположенный в коротком плече хромосомы 2B.

3.4. Использование интрогрессивных линий в качестве доноров генов иммунитета в схемах маркер-ориентированной селекции

Для получения линий-доноров с единичной транслокацией в хромосоме 5BL, содержащей главный локус устойчивости к бурой ржавчине *Q_{Lr}.icg-5B*, была использована схема маркер-контролируемого беккроссного отбора (MABS) (рис. 10).

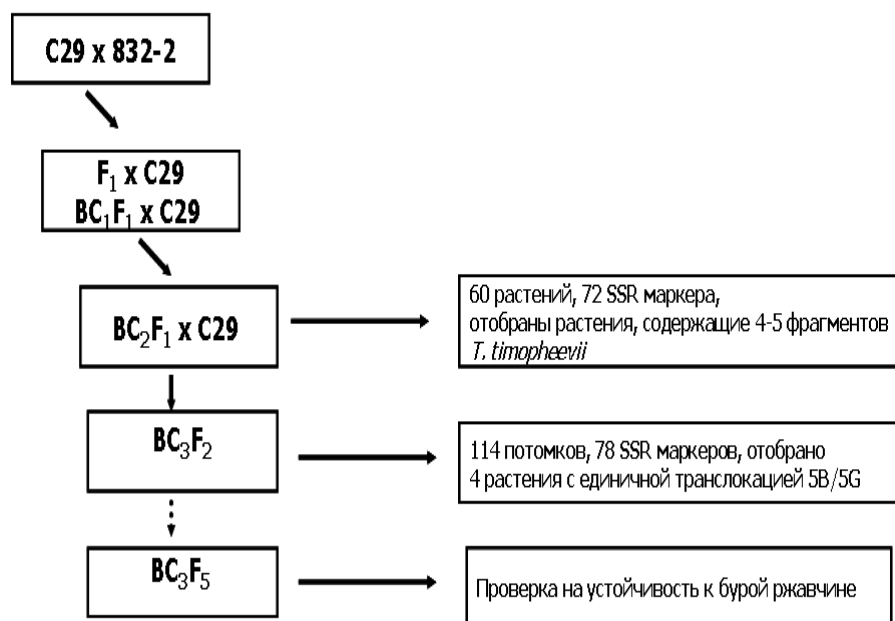


Рисунок 10. Схема MABS для получения линий, содержащих единичный фрагмент транслокации в хромосоме 5BL.

В результате реализации такой схемы на основе линии 832-2, содержащей

множественные фрагменты *T. timopheevii*, на стадии BC₃F₂ была отобрана линия 5366-180 с единичной транслокацией 5BS.5BL-5GL. Проверка линии 5366-180 на

стадиях проростков и взрослых растений показала, что устойчивость к популяции бурой ржавчины Западно-Сибирского региона составляет 0-1 балла по шкале иммунности (Тимонова и др., 2012; Timonova et al., 2013).

Линия 5366-180 была использована в качестве донора для переноса локуса *QLricg-5B* в селекционную линию 183/2-2 (Chinese Spring/*T. durum*), которая отличается восприимчивым типом реакции к бурой ржавчине (балл 4). Потомство популяции F₂ (183/2-2 x 5366-180) было генотипировано SSR-маркерами из области локализации локуса *QLricg-5B*. В качестве маркеров использованы SSR-локусы *Xgwm1016*, *Xgwm814* и *Xgwm1257*, фланкирующие *QLricg-5B* на молекулярно-генетической карте хромосомы 5BL (рис. 5). Маркеры *Xgwm1016* и *Xgwm814* являются доминантными и не амплифицируют фрагменты в геноме линии-донора 5366-180, *Xgwm1257* – кодоминантный маркер, амплифицирующий фрагменты, специфичные как для линии 183/2-2 (244 п.н.), так и для линии-донора 5366-180 и *T. timopheevii* var. *viticulosum* (263 п.н.) (рис. 11).

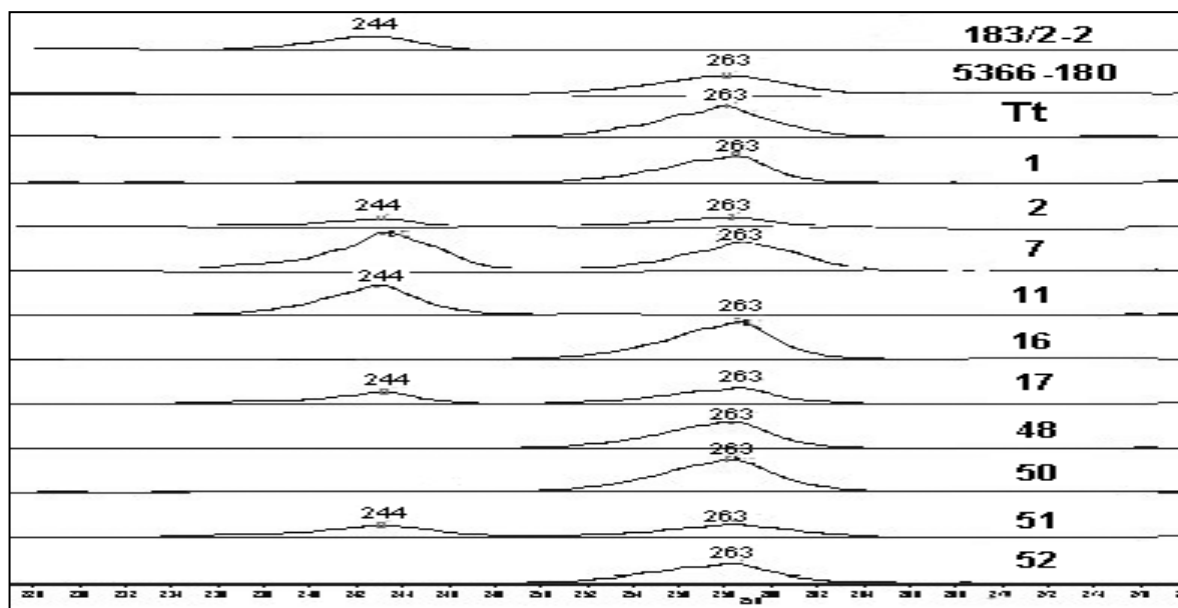


Рисунок 11. Электрофореграмма продуктов ПЦР, полученных в результате амплификации маркера *Xgwm1257* с ДНК родительских образцов 183/2-2, 5366-180, *T. timopheevii* и растений популяции F₂ (№1, 2, 7, 11, 16, 17, 48, 50, 51, 52). Размер фрагментов амплификации в п.н. указан над пиками.

По данным генотипирования потомства популяции F₂ гибридные растения были условно поделены на 5 групп в зависимости от состояния (гомо- или гетерозиготное) локусов *Xgwm1016*, *Xgwm814* и *Xgwm1257* (табл. 7). Результаты показали, что спектры ПЦР 15 растений из 71 (группа I) соответствовали

родительской линии 183/2-2, что свидетельствует об отсутствии транслокации 5BS.5BL-5GL. Для 20 растений (группа II) было установлено гомозиготное состояние по трем микросателлитным локусам, соответствующее генотипу линии-донора 5366-180 и *T. timopheevii*, двадцать пять растений оказались гетерозиготами по SSR-локусу *Xgwm1257* (группа V).

Таблица 7. Длины фрагментов ПЦР и восприимчивость к бурой ржавчине растений популяции F₂₋₃ (183/2-2 x 5366-180) в полевых условиях

Группа	Образец	Степень поражения по шкале Кобба (в %)	SSR-маркеры/длина фрагмента ПЦР, п.н.		
			<i>Xgwm1016</i>	<i>Xgwm814</i>	<i>Xgwm1257</i>
	183/2-2	80-100	156	149	244
	5366-180	0-5	null	null	263
	<i>T. timopheevii</i>	0	null	null	263
№ F ₂₋₃					
I	11	80-100	156	149	244
	24	80-100	156	149	244
II	14	0	null	null	263
	16	1-5	null	null	263
	23	1-5	null	null	263
	43	0	null	null	263
	71	1-5	null	null	263
III	21	0	156	null	263
	44	0	156	null	263
IV	18	1-5	156	149	263
	19	1-5	156	149	263
	22	10	156	149	263
	25	1-5	156	149	263
	53	10	156	149	263
V	39	65-80	156	149	244, 263
	51	10-65	156	149	244, 263
	56	10-65-100	156	149	244, 263

цветом выделены SSR-локусы, спектры ПЦР которых совпадают со спектрами линии-донора 5366-180 и *T. timopheevii* var. *viticulosum*.

Из оставшихся 11 растений, 8 растений были гомозиготами по локусу *Xgwm1257* (группа IV), а три растения гомозиготами по локусам *Xgwm814* и

Xgwm1257 (группа III) со спектрами ПЦР, типичными для линии 5366-180, что позволяет предположить наличие рекомбинантов по фрагменту транслокации.

Проверка восприимчивости к бурой ржавчине проводилась с использованием популяции F_3 в течение двух полевых сезонов на инфекционных полях ИЦиГ СО РАН и СибНИИРС. Степень поражения родительской линии 183/2-2 составляла 80-100%, тогда как поражение линии 5366-180 не превышало 5% (табл. 7). Растения группы I были сходны с линией 183/2-2 по фрагментам амплификации трех SSR-локусов и не отличались от нее по восприимчивости к бурой ржавчине. У растений групп II и III в гомозиготном состоянии определялись три и два SSR-локуса, соответственно, со спектрами ПЦР, типичными для *T. timopheevii* и линии 5366-180. Степень поражения растений, входящих в состав этих групп, находилась в диапазоне 0-5% и была сходна с линией 5366-180. Для растений группы IV, у которых в гомозиготном состоянии выявлялся только маркер *Xgwm1257*, восприимчивость к бурой ржавчине была выше, чем в группах II и III, но не превышала 10%. В группе V потомство, гетерозиготное маркеру *Xgwm1257*, показало высокую восприимчивость (65-80%), при этом у двух семейств F_3 (51 и 56) наблюдалось расщепление по устойчивости.

Таким образом, сравнение результатов генотипирования с результатами полевых испытаний рекомбинантных линий на восприимчивость к бурой ржавчине свидетельствует, что для отбора генотипов, содержащих локус *QLr.icg-5B* в гомозиготном состоянии, необходимо не менее двух микросателлитных маркеров (*Xgwm814* и *Xgwm1257*), фланкирующих этот локус, при этом один из них должен иметь кодоминантное наследование.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе предложена и опробована технология поиска и изучения локусов устойчивости к грибным патогенам, происходящих от родичей мягкой пшеницы. Использование в качестве экспериментальных моделей интрогрессивных линий, содержащих большой объем генетического материала *T. timopheevii*, позволило выявить новые генетические локусы, определяющие устойчивость мягкой пшеницы к бурой ржавчине и мучнистой росе и определить диагностические маркеры для контроля процесса интрогрессии этих локусов от линий-доноров в восприимчивые формы пшеницы.

Сравнение результатов картирования локусов *Lr* у линий, содержащих

генетический материал от разных образцов *T. timopheevii*, показывает, что QTLs, определяющие устойчивость к бурой ржавчине, имеют разную хромосомную локализацию и разное происхождение из генома *T. timopheevii*: хромосомы 1A, 2A и 5B у линий *T. aestivum/T. timopheevii* и хромосома 2BS у линий, полученных с участием амфидиплоида *T. timopheevii/Ae. tauschii*. Сопоставление результатов, полученных в данном исследовании, с литературными данными по идентификации генов *Lr*, в том числе от пшениц группы Timopheevi, позволило сделать заключение, что картированные локусы являются новыми эффективными локусами, обеспечивающими устойчивость мягкой пшеницы к бурой ржавчине.

Картирование QTLs, проявляющих ассоциацию с хозяйственно-ценными признаками, не выявило негативного влияния генетического материала фрагментов интрогрессии, содержащих локусы *Lr* и *Pm*, на урожайность и его компоненты. Полученные результаты позволяют предположить, что линии *T. aestivum/T. timopheevii*, содержащие набор интрогрессированных фрагментов, не оказывающих негативных эффектов на хозяйственно-ценные признаки, могут быть использованы в качестве источников целевых локусов для повышения устойчивости пшеницы к грибным патогенам без снижения продуктивности сортового материала.

Результаты, полученные в данной работе, были использованы в качестве практического приложения в схеме маркер-контролируемого беккроссного отбора для создания линий-доноров локусов *Lr* и их переноса в восприимчивые образцы мягкой пшеницы. Применение схемы MABS позволило в ускоренные сроки за три поколения получить формы, содержащие главный локус *QLr.icg-5B* в гомозиготном состоянии. Использование SSR-маркеров, фланкирующих *QLr.icg-5B*, в сочетании с фитопатологическими тестами на устойчивость, подтвердил их диагностическую эффективность для контроля процесса переноса локуса в восприимчивые образцы мягкой пшеницы.

ВЫВОДЫ

1. На основе комплексного анализа аллельного полиморфизма микросателлитных локусов и устойчивости к грибным болезням у интрогрессивных линий *T. aestivum/T. timopheevii* показано увеличение генетического разнообразия вследствие переноса материала *T. timopheevii* в геном мягкой пшеницы с сохранением значительной части геномного состава родительских сортов.

2. Установлено, что генотипическая среда сорта-реципиента мягкой пшеницы оказывает влияние на число и хромосомную локализацию фрагментов интрогрессии *T. timopheevii*, при этом не наблюдается различий по протяженности чужеродного генетического материала.
3. Селекция на устойчивость линий *T. aestivum/T. timopheevii* к бурой ржавчине привела к отбору форм с высокой частотой замещений и транслокаций в хромосомах 1A, 2A, 2B, 5A, 5B и 6B, что позволило предположить наличие в этих хромосомах эффективных генов резистентности к грибным патогенам.
4. Впервые в геноме линий *T. aestivum/T. timopheevii* и *T. aestivum-T. timopheevii/Ae. tauschii*, содержащих генетический материал от двух независимых образцов *T. timopheevii*, картированы новые гены и QTLs, контролирующие устойчивость мягкой пшеницы к бурой ржавчине. Совокупность результатов по хромосомной локализации локусов и фитопатологической оценке линий позволяет заключить, что гены *LrTt1*, *LrTt2* и локусы *QLr.icg-1A* и *QLr.icg-2B* не идентичны ни одному из известных локусов устойчивости к бурой ржавчине, интродуцированных в геном мягкой пшеницы от *T. timopheevii*.
5. Впервые установлено, что основной генетический контроль устойчивости к бурой ржавчине у линий *T. aestivum/T. timopheevii* осуществляется главным и двумя минорными локусами, унаследованными в составе транслоцированных участков хромосом 5G, 2A^t и 1A^t *T. timopheevii*. Наличие трех генных локусов обеспечивает длительную устойчивость линий к бурой ржавчине.
6. Впервые в геноме интрогрессивной линии *T. aestivum/T. timopheevii* в районе фрагмента транслокации 6DS.6DL-6A^tL выявлен локус устойчивости к мучнистой росе *QPm.icg-6D*, происходящий из хромосомы 6A^t *T. timopheevii*.
7. На примере интрогрессивной линии *T. aestivum/T. timopheevii* впервые показано отсутствие негативного влияния генетического материала *T. timopheevii* в хромосомах 2A, 5B и 6D, содержащих локусы устойчивости к грибным болезням, на другие хозяйственно-ценные признаки. Выдвинуто предположение, что удлинение периода всходы-колошение связано с заменой фрагмента хромосомы 2B мягкой пшеницы на фрагмент хромосомы 2G *T. timopheevii*.
8. Предложена и экспериментально подтверждена схема маркер-контролируемого беккроссного отбора для ускоренного получения линий-доноров главного локуса

устойчивости к бурой ржавчине *QLr1cg-5B*. Установлено, что для эффективного отбора устойчивых образцов, необходимо использовать не менее двух диагностических маркеров, фланкирующих локус *QLr1cg-5B*.

СПИСОК ОСНОВНЫХ ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в печатных изданиях, рекомендованных Перечнем ВАК РФ

1. Салина, Е.А. Микросателлиты пшеницы: перспективы использования для картирования генов и анализа реконструированных геномов / Салина Е.А., **Леонова И.Н.**, Родер М.С. и др. // Физиология растений. – 2001. – Т. 48. – №3. – С. 441–446.
2. **Леонова, И.Н.** Молекулярный анализ устойчивых к бурой ржавчине интрогрессивных линий, полученных при скрещивании гексаплоидной пшеницы *T. aestivum* с тетраплоидной пшеницей *T. timopheevii* / Леонова И.Н., Родер М.С., Будашкина Е.Б. и др. // Генетика. – 2002. – Т. 38. – №12. – С. 1648–1655.
3. Salina, E.A. Microsatellite monitoring of recombination around of *Vrn-B1* locus of wheat during early backcross breeding / Salina E.A., Dobrovolskaya O.B., **Leonova I.N.**, Efremova T.T., Röder M.S. // Plant Breed. – 2003. – V. 122. – P. 110–116.
4. **Leonova, I.** Mapping of the *VrnB1* gene in *Triticum aestivum* using microsatellite markers / Leonova I., Pestsova E., Salina E. et al. // Plant Breed. – 2003. – V. 122. – P. 209–212.
5. **Leonova, I.** Identification of microsatellite markers for a leaf rust resistance gene introgressed into common wheat from *Triticum timopheevii* / Leonova I., Börner A., Budashkina E. et al. // Plant Breed. – 2004. – V. 123. – P. 93–95.
6. Каминская, Л.Н. Создание линий тритикале, маркированных *Vrn*-генами, и их молекулярно-генетический анализ / Каминская Л.Н., Корень Л.В., **Леонова И.Н.** и др. // Информационный вестник ВОГиС. – 2005. – Т. 9. – С. 481–489.
7. **Леонова, И.Н.** Молекулярный анализ линий тритикале, содержащих различные системы *VRN*-генов, с помощью микросателлитных маркеров и гибридизации *in situ* / Леонова И.Н., Добровольская О.Б., Каминская Л.Н. и др. // Генетика. – 2005. – Т. 41. – С. 1236–1243.
8. Salina, E.A. Wheat genome structure: translocations during the course of polyploidization / Salina E.A., **Leonova I.N.**, Efremova T.T., Röder M.S. // Funct. Integr. Genomics. – 2006. – V. 6. – P. 71–80.
9. **Leonova, I.N.** Detection of quantitative trait loci for leaf rust resistance in wheat-*T. timopheevii*/*T. tauschii* introgression lines / Leonova I.N., Laikova L.I., Popova O.M. et al. // Euphytica. – 2007. – V. 155. – P. 79–86.
10. **Леонова, И.Н.** Генетический анализ и локализация локусов, контролирующей устойчивость интрогрессивных линий *Triticum aestivum* x *Triticum timopheevii* к листовой ржавчине / Леонова И.Н., Родер М.С., Калинина Н.П., Будашкина Е.Б. // Генетика. – 2008. – Т. 44. – С. 1652–1659.

11. Салина, Е.А. ДНК-маркеры для генотипирования линий мягкой пшеницы (*T. aestivum* L.) с генетическим материалом *Aegilops speltoides* и *Triticum timopheevii* Zhuk. / Салина Е.А., Егорова Е.М., Адонина И.Г., Добровольская О.Б., Будашкина Е.Б., **Леонова И.Н.** // Информационный вестник ВОГИС. – 2008. – Т. 12. – С. 620–628.
12. **Leonova, I.N.** The application of wheat microsatellite markers for the detection of interspecific variation in tetraploid *Aegilops* species with C and U genomes / Leonova I.N., Röder M.S., Nasyrova F. // Cereal Research Communication. – 2009. – V. 37. – P. 335–343.
13. Гордеева, Е.И. Сравнительный цитологический и молекулярный анализ интрогрессивных линий мягкой пшеницы, содержащих генетический материал *Triticum timopheevii* Zhuk. / Гордеева Е.И., **Леонова И.Н.**, Калинина Н.П. и др. // Генетика. – 2009. – Т. 45. – С. 1616–1626.
14. **Leonova, I.N.** Microsatellite mapping of a leaf rust resistance gene transferred to common wheat from *Triticum timopheevii* / Leonova I.N., Budashkina E.B., Flath K. et al. // Cereal Research Communication. – 2010. – V. 38. – P. 212–219.
15. **Leonova, I.N.** *Triticum aestivum*-*Triticum timopheevii* introgression lines as a source of pathogen resistance genes / Leonova I.N., Budashkina E.B., Kalinina N.P. et al. // Czech J. Genet. Plant Breed. – 2011. – V. 47. – S49–S55.
16. Тимонова, Е.М. Влияние отдельных участков хромосом *Triticum timopheevii* на формирование устойчивости к болезням и количественные признаки мягкой пшеницы / Тимонова Е.М., **Леонова И.Н.**, Белан И.А., Россеева Л.П., Салина Е.А. // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2012. – Т. 16. – С. 142–159.
17. Timonova, E.M. Marker-assisted development and characterization of a set of *Triticum aestivum* lines carrying different introgressions from the *T. timopheevii* genome / Timonova E.M., **Leonova I.N.**, Röder M.S., Salina E.A. // Mol. Breed. – 2013. – V. 31. – P. 123–136.
18. **Леонова, И.Н.** Молекулярные маркеры: использование в селекции зерновых культур для идентификации, интрогрессии и пирамидирования генов / Леонова И.Н. // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2013. – Т. 17. – С. 314–325.
19. **Леонова, И.Н.** Сравнительная характеристика гибридных линий *Triticum aestivum*/*Triticum durum* и *Triticum aestivum*/*Triticum dicoccum* по геномному составу и устойчивости к грибным болезням в различных экологических условиях / Леонова И.Н., Бадаева Е.Д., Орловская О.А. и др. // Генетика. – 2013. – Т. 49. – С. 1276–1283.
20. **Леонова, И.Н.** Молекулярно-генетическое разнообразие интрогрессивных линий мягкой пшеницы (*T. aestivum*/*T. timopheevii*) / Леонова И.Н., Орловская О.А., Родер М.С. и др. // Вавилов. журнал генетики и селекции. – 2014. – Т. 18. – С. 681–690.
21. Орловская, О.А. Особенности поведения хромосом в мейозе у линий мягкой

пшеницы с интрогрессией генетического материала тетраплоидных видов рода *Triticum* / Орловская О.А., **Леонова И.Н.**, Салина Е.А., Хотылева Л.В. // Экологическая генетика. – 2015. – Т. 13. – С. 16–25.

Статьи в других изданиях

22. Каминская Л. Реорганизация генома тритикале / Каминская Л., Корень Л., **Леонова И.** и др. // Наука и инновации. – 2008. – № 12. – С. 26-30.
23. Börner A. Items from Germany / Börner A., Joshi A.K., Khlestkina E.K., Kobiljski B., Kranner I., Kumar U., Landjeva S., **Leonova I.N.** et al. // Annual wheat newsletters. – 2010. – V. 56. – P. 47–52.
24. **Леонова, И.Н.** Использование SSR-маркеров для характеристики гибридных линий мягкой пшеницы с генетическим материалом *T. durum* и *T. dicoccum* / Леонова И.Н., Салина Е.А., Орловская О.А. и др. // Молекулярная и прикладная генетика. – 2014. – Т. 18. – С. 61–69.

Патенты

25. Способ создания иммунных аналогов мягкой пшеницы сорта Саратовская 29 с комплексной устойчивостью к болезням / Лайкова Л. И., Арбузова В.С., Попова О.М., Ефремова Т.Т., **Леонова И.Н.**, Ермакова М.Ф. // Патент на изобретение №2217905 от 10.12.2003 г.
26. Способ создания линий мягкой пшеницы, устойчивых к бурой листовой ржавчине / Салина Е.А., **Леонова И.Н.**, Будашкина Е.Б., Егорова Е.М. // Патент на изобретение №2407283 от 27.12.2010.
27. Способ создания линий мягкой пшеницы, устойчивых к бурой ржавчине / Салина Е.А., **Леонова И.Н.**, Петраш Н.В., Адонина И.Г., Щербань А.Б. // Патент на изобретение № 3484621 от 20.06.2013.
28. Способ создания линий яровой мягкой пшеницы с удлиненным сроком колошения и комплексной устойчивостью к грибным болезням / Салина Е.А., **Леонова И.Н.**, Щербань А.Б. // Патент на изобретение №2535985 от 02.08.2013

Статьи в сборниках научных трудов

29. **Leonova, I.N.** The transfer of genes for the disease resistance in cultivated plants; germplasm as a method of their preservation and creation of biodiversity / Leonova I.N., Budashkina E.B., Kalinina N.P. // Biodiversity and Dynamics of ecosystem in North Eurasia. Proceed. Intern. Conf. – Novosibirsk, 2000. – Part 3. – P. 25–27.
30. **Leonova, I.N.** Comparative molecular and genetic analysis of *T. timopheevii* x *T. aestivum* hybrid lines resistant to leaf rust / Leonova I.N., Budashkina E.B., Kalinina N.P. et al. // EWAC Newsletters. – 2001. – P. 140–143.
31. **Leonova, I.N.** Common wheat introgressive lines-source of new genes for breeding and molecular marking of reconstructed forms / Leonova I.N., Budashkina E.B., Kalinina N.P. // Genetic collection of isogenic and alloplasmic lines. Proceed. Intern. Conf. – Novosibirsk, 2001. – P. 143–145.

32. Laikova, L.I. Molecular genetic analysis of immune analogues for wheat cultivar's Saratovskaya-29 with complex disease resistance / Laikova L.I., **Leonova I.N.**, Röder M.S. et al. // Molecular mechanisms of genetic processes and biotechnology. Proceed. Intern. Symposium. – Moscow, 2001. – P. 79–80.
33. Budashkina, E.B. The transfer and chromosomal identification of *Triticum timopheevii* genetic material in the genome of introgression lines of common wheat / Budashkina E.B., Kalinina N.P., **Leonova I.N.** // EWAC Newsletters. – 2002. – P. 101–103.
34. Будашкина, Е.Б. Вторичные генофонды - источник новых генов для селекции / Будашкина Е.Б., Калинина Н.П., **Леонова И.Н.** // Сб. материалов 2-й конф. Моск. об-ва генетиков и селекционеров им. Вавилова. – Москва, 2003. – С. 32–33.
35. Будашкина, Е.Б. Вторичные генофонды – путь сохранения уникальных генов диких видов и резерв для селекции / Будашкина Е.Б., Калинина Н.П., **Леонова И.Н.** // Отдаленная гибридизация. Современное состояние и перспективы развития. Труды международной конференции. – Москва, 2003. – С. 45–47.
36. Будашкина, Е.Б. Создание вторичных генофондов – путь сохранения генов устойчивости диких видов и резерв для селекции / Будашкина Е.Б., Калинина Н.П., **Леонова И.Н.** // Селекция сельскохозяйственных культур на иммунитет. Сборник трудов научно-методической конференции. – Новосибирск, 2004. – С. 55–61.
37. Будашкина, Е.Б. Вторичные генофонды – путь вовлечения генов диких видов в селекцию при создании устойчивых сортов мягкой пшеницы. / Будашкина Е.Б., Калинина Н.П., **Леонова И.Н.**, Гордеева Е.И. // Сб. материалов 2-го Всероссийского съезда по защите растений. – Санкт-Петербург, 2005. – Т. 1. – С. 405–407.
38. Будашкина, Е.Б. Перенос в геном мягкой пшеницы генов устойчивости к патогенам и их идентификация у интрогрессивных форм / Будашкина Е.Б., Гордеева Е.И., Калинина Н.П., **Леонова И.Н.** // Устойчивость растений к неблагоприятным факторам внешней среды. Труды Всероссийской научной конференции. – Иркутск, 2007. – С. 36–38.
39. **Леонова, И.Н.** Локализация генов, контролирующей устойчивость интрогрессивных линий мягкой пшеницы *T. aestivum* x *T. timopheevii* к листовой ржавчине / Леонова И.Н., Будашкина Е.Б. // Устойчивость растений к неблагоприятным факторам внешней среды. Труды Всероссийской научной конференции. – Иркутск, 2007. – С. 151–154.
40. Егорова, Е.М. Получение интрогрессивных линий мягкой пшеницы, содержащих различные фрагменты хромосом A¹ и G геномов тетраплоидной пшеницы *T. timopheevii* / Егорова Е.М., **Леонова И.Н.**, Салина Е.А. // Устойчивость растений к неблагоприятным факторам внешней среды. Труды Всероссийской научной конференции. – Иркутск, 2007. – С. 82–84.
41. **Леонова, И.Н.** Использование молекулярно-генетических подходов и методов хромосомной инженерии для изучения и увеличения генетического разнообразия мягкой пшеницы: интрогрессивные линии мягкой пшеницы (*T. aestivum* x *T. timopheevii*) – новый источник генетического разнообразия / Леонова И.Н., Будашкина Е.Б., Гордеева Е.И., Калинина Н.П. // Биоразнообразии и динамика

генофондов. Сборник материалов отчетной конф. – Москва, 2007. – С. 141–142.

42. Будашкина, Е.Б. Интрогрессивные линии мягкой пшеницы – источник новых генов для селекции пшеницы на устойчивость к патогенам / Будашкина Е.Б., Калинина Н.П., Гордеева Е.И., **Леонова И.Н.** // Научное наследие Н.И. Вавилова – фундамент развития отечественного и мирового сельского хозяйства. Материалы международной конференции. – Москва, 2007. – С. 43–44.
43. Будашкина, Е.Б. Создание вторичных генофондов – источник генов устойчивости к болезням мягкой пшеницы и их использование в селекции / Будашкина Е.Б., Гордеева Е.И., Калинина Н.П., Россеева Л.П., **Леонова И.Н.** // Генетические ресурсы культурных растений в XXI веке. Сборник трудов II Вавиловской межд. конф. – Санкт-Петербург, 2008. – С. 247–249.
44. Будашкина, Е.Б. Использование пула генов *Triticum timopheevii* Zhuk. и молекулярно-генетических подходов в создании интрогрессивных линий мягкой пшеницы – доноров генов устойчивости к патогенам // Будашкина Е.Б., Калинина Н.П., Гордеева Е.И., **Леонова И.Н.** // Современные проблемы иммунитета растений к вредным организмам. Сб. материалов 2-й Всероссийской конф. – Санкт-Петербург, 2008. – С. 114–115.
45. **Леонова, И.Н.** Использование методов «молекулярной» селекции для получения устойчивых к листовой ржавчине линий мягкой пшеницы, содержащих интрогрессии от *Triticum timopheevii* / Леонова И.Н., Егорова Е.М., Будашкина Е.Б., Салина Е.А. // Современные проблемы иммунитета растений к вредным организмам. Сб. трудов II Всероссийской конференции. – Санкт-Петербург, 2008. – С. 153–155.
46. Егорова, Е.М. Получение и анализ линий мягкой пшеницы, содержащие единичные интрогрессивные фрагменты от *T. timopheevii* / Егорова Е.М., **Леонова И.Н.**, Будашкина Е.Б., Салина Е.А. // Факторы экспериментальной эволюции организмов. Сборник трудов международной конференции. – Алушта, 2009. – С. 298–302.
47. **Leonova, I.N.** *T. aestivum* x *T. timopheevii* introgression lines as a source of pathogen resistance genes / Leonova I.N., Budashkina E.B., Kalinina N.P. et al. // Proceed. 8th International Wheat Conference. – St. Petersburg, 2010. – P. 73–74.
48. Salina, E.A. Development and application of *Triticum timopheevii* mapping data in wheat resistance management strategies / Salina E.A., **Leonova I.N.**, Egorova E.M. et al. // Proceed. 8th International Wheat Conference. – St. Petersburg, 2010. – P. 468–469.

Благодарности. Приношу глубокую благодарность научному консультанту д.б.н., профессору Салиной Елене Артемовне за помощь в подготовке диссертации, к.б.н. Е.Б. Будашкиной, к.б.н. Н.П. Калининой, к.б.н. Е.М. Тимоновой, к.с.-х.н. Ю.А. Христову, лаборантам М.В. Баклановой, В.Г. Урбах за помощь в проведении полевых экспериментов. Благодарю за помощь и поддержку коллег из ИЦиГ СО РАН – д.б.н. Л.А. Першину, член-корр. РАН Н.П. Гончарова, к.б.н. О.Г. Силкову и всех сотрудников лаборатории молекулярной генетики и цитогенетики растений.