

Міністерство освіти і науки України
Національний університет «Києво-Могилянська академія»
Факультет природничих наук

Кафедра біології

Магістерська робота
освітній ступінь - магістр

на тему **«ПОЛІМОРФІЗМ ЗА МІКРОСАТЕЛІТНИМИ ЛОКУСАМИ У
ПШЕНИЦІ МІГУШОВОЇ ТА СОРТІВ ПШЕНИЦІ М'ЯКОЇ»**

Виконала: студентка 2-го року навчання
спеціальності 091 — біологія
Титенко Наталія Сергіївна

Керівник: Антонюк М.З., доктор
біологічних наук, доцент кафедри біології
НаУКМА

Рецензент: Сергєєва Т. А., д.б.н.,
провідний науковий співробітник,
Інститут молекулярної біології і генетики
НАНУ

Магістерську роботу захищено
з оцінкою _____

Секретар ЕК _____
Пасічник Т.В.
«____» червня 2020 року

Київ – 2020

ЗМІСТ

	Стор.
ВСТУП _____	3
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ _____	6
1.1 Типи резистентності до збудника фузаріозу _____	6
1.1.1. Фенотипна оцінка типів стійкості _____	7
1.2.Картування генів стійкості до фузаріозу пшениці_____	9
1.3. Джерела інтродукції генів стійкості у геном пшениці м'якої серед близькоспоріднених родичів та стійких фенотипів_____	14
1.3.1 Трансгенна інтрогресія генів стійкості від інших видів в геном пшениці_____	17
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА _____	19
РОЗДІЛ 2. ОБ'ЄКТИ, МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ_	19
2.1. Характеристика використаного рослинного матеріалу_____	19
2.2. Виділення ДНК із рослинного матеріалу та вимірювання її концентрацій _____	19
2.3. Проведення полімеразно-ланцюгової реакції (ПЛР)_____	20
2.4. Постановка акриламідного гель-електрофорезу_____	21
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ _	23
УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ _____	31
ВИСНОВКИ _____	35
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ _____	36
ДОДАТКИ _____	47

ВСТУП

Інфікування пшениці м'якої мікроскопічними грибами роду *Fusarium* становить значну загрозу для регіонів з помірним кліматом, а також вологих субтропічних регіонів, й може призвести до повної втрати врожаїв [1]. Вид *F. graminearum* найчастіше слугує причиною захворювання, викликаючи фузаріоз колоса у рослин родини злакових (*Poaceae*). Збудник має широке коло господарів серед представників роду: пшениця (рід *Triticum*), ячмінь (рід *Hordeum*), рис (рід *Oryza*), овес (рід *Avena*), кукурудза (рід *Zea*), а також може вражати представників інших родів без прояву ознак захворювання: *Agropyron*, *Agrostis*, *Bromus*, *Calamagrostis*, *Cenchrus*, *Cortaderia*, *Cucumis*, *Echinochloa*, *Glycine*, *Hierochloe*, *Lolium*, *Lycopersicon*, *Medicago*, *Phleum*, *Poa*, *Schizachyrium*, *Secale*, *Setaria*, *Sorghum*, *Spartina* та *Trifolium* [2].

Підвищення вологості та теплих температур в період цвітіння пшениці забезпечує оптимальні умови для розвитку збудника, аскоспори котрого потрапляють всередину рослини через пиляки [3]. У пшениці описано три типи цвітіння: відкрите (шазмогамічне, chazmogamic), коли всі три пиляки виставлені назовні квітки; закрите (клеистогамічне, cleistogamic), коли пиляки залишаються всередині квітки; змішане, коли один-два пиляки залишаються всередині квітки. Найменше вражаються клістогамічні генотипи, тоді як найбільш схильними до фузаріозу є генотипи цвітіння змішаного типу. Такі спостереження можуть бути пов'язані з доступністю пиляків, що містять речовини (холін, гліцин, бетаїн), котрі стимулюють ріст грибів [4]. Далі гриби уражають ості, в них дозрівають макроконідії, які продукують нестатеві спори, й відбувається інфікування сусідніх колосків та рослин. Як наслідок, рослини залишаються чутливими до інфікування в період від цвітіння до молочної стиглості зерна [5]. Таким чином, створення стійких сортів є найбільш ефективним підходом до боротьби з хворобою.

Стійкість пшениці до фузаріозу - це ознака, яка контролюється багатьма генами з кількісним успадкуванням. Кількісний характер прояву стійкості

залежить від навколишнього середовища і має відносно вузьку генетичну базу для варіацій у первинному генофонді, що ускладнює контроль за ознакою при доборі в популяції [6]. Так із 121-ї дослідженої раси із колекції Воткінса (Watkins landrace collection resource for bread wheat), лише 5 рас рослин характеризувалися помірною стійкістю до фузаріозу. [7]. Водночас, інтрогресія в геном пшениці м'якої чужинних генів резистентності від стійких рослин, підтримує постійний пул генетичного різноманіття. Штучні гексаплоїди, створені від гібридизації пшениці м'якої із іншими злаками, відрізняються кращою адаптивною здатністю до абіотичних і біотичних стресів [8]. Пшениця Мігушової (*Triticum miguschovae* Zhir.) характеризується стійкістю до фузаріозу [9]. Залучення цього виду для створення низки ліній гексаплоїдної пшениці з інтрогресіями, що несуть хромосомні сегменти від родича пшениці м'якої з генами стійкості до фузаріозу, є перспективним також і з точки зору генетичної конституції синтетичного виду пшениці Мігушової.

У роботі було використано методику мікросателітного аналізу: полімеразно-ланцюгова реакція, що базується на використанні праймерів до послідовностей мікросателітних повторів. Ефективність використання мікросателітних локусів для дослідження структури геномів, що містять чужинний хроматин, було показано у попередніх дослідженнях [10].

Роботу виконували в лабораторії генетики та клітинної біології кафедри біології НаУКМА.

Мета роботи: пошук інтрогресій *Triticum miguschovae* Zhir. в геном *T. aestivum* з використанням мікросателітних локусів.

Для досягнення мети було поставлено наступні завдання:

1. Виділити ДНК від рослин F1;
2. Підібрати, спираючись на літературні джерела, праймери до мікросателітних локусів;

3. Провести порівняння продуктів ампліфікації праймерів для сортів пшениці м'якої та *Triticum miguschovae* Zhir. для пошуку мікросателітних локусів, що є інформативними в гібридних геномах;

4. Виявити мікросателітні локуси, що є інформативними для пошуку інтрогресій хроматину *Triticum miguschovae* Zhir. в геном пшениці м'якої та детекції процесів молекулярних перебудов викликаних гібридизацією.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Типи резистентності до збудника фузаріозу

У пшениці було ідентифіковано п'ять типів формування резистентності до збудника фузаріозу (табл. 1.1). Стійкість першого типу передбачає толерантність до ініціації інфекції, другого – попередження поширенню патогену від інфікованого колосу, третього – толерантність до накопичення мікотоксинів, за четвертого типу хвороба проходить без суттєвих пошкоджень зерна, а п'ятого - рослина здатна руйнувати мікотоксини [11].

Таблиця 1.1

Типи стійкості до фузаріозу та їх механізм, що зустрічаються у пшениці

Тип стійкості	Механізм
I	Попередження ініціації інфекції
II	Пригнічення поширення по колосу
III	Зниження накопичення мікотоксинів
IV	Попередження пошкодження зерна
V	Загальний опір рослини інфекції

Стійкість I та II типів вважається найбільш ефективною для забезпечення толерантності та найчастіше зустрічається серед ідентифікованих послідовностей. Слід зазначити, що вони знаходяться під контролем різних генетичних механізмів. На формування резистентності I типу важливий вплив має морфологія рослин та їх взаємодія з навколишнім середовищем, вона забезпечується за рахунок плейотропного ефекту цілої низки генів, у той час, як до формування II типу залучена незначна кількість генів, а морфологія рослини несе другорядне значення [12].

Щодо стійкості III типу, то цей тип значно гірше описаний в літературі порівняно з двома попередніми. За винятком родини генів, що кодують UDP глюкосилтрансферази (*UGT*), інші гени, що можуть бути залучені в механізм розвитку стійкості, не відомі. UDP глюкосилтрансферази здатні перетворювати мікотоксин діоксиніваденол (DON) на менш токсичний для рослин DON-3 -глюкозид (D3G). Однак, поки жоден ген *UGT* не виявився пов'язаним із *QTL(Quantitative Trait Loci)*, котрі забезпечували б значний прояв резистентності у рослин [13,14]. На 3BL та на 3DL було ідентифіковано *QTL*, що, попри відсутність впливу на тяжкість перебігу фузаріозу, забезпечують значний рівень стійкості до накопичення діоксиніваденолу, що вказує на важливість цих регіонів для контролю вмісту мікотоксину [15]. Водночас, ці гени мають починати експресуватися в тканинах остей на етапі пізнього розвитку зерна, або (у випадку гену на 3DL) тільки в зерні, що робить їхній вплив на розвиток резистентності незначним при оцінці рослин [16]. На короткому плечі хромосоми 5A сорту «Everest» було картовано локус *Qksu-fhbE-5AS*, пов'язаний із формуванням резистентності III та IV типів [17]. Вважають, що резистентність IV типу, пов'язана із резистентністю III типу. Резистентність V типу має незалежне походження від всіх інших типів [18]. Два сорти пшениці м'якої, Sakura та Bakfs, є носіями резистентності типу V [19]

1.1.1. Фенотипна оцінка типів стійкості. На ефективність пошуку локусів, що залучені у формування того чи іншого типу стійкості, впливає складність фенотипної оцінки. Резистентність типу I, як правило, визначають за морфологічними проявами, оскільки варіювання особливостей в будові рослин зазвичай впливає на кількість заражених колосків. Для визначення стійкості II типу оцінюють відсоткове співвідношення заражених остей на неурожених колосах [20]. Стійкість типу II можна оцінити в польових умовах шляхом усереднення співвідношення заражених остей до всіх колосів на ділянці чи ярусі. Оцінка стійкості типів III та IV вимагають більш точного вимірювання. Для оцінки резистентності типу III зазвичай

використовують різні методи хроматографії. Вони відрізняються вищою вартістю і, як правило, вимагають великої кількості зразків та подрібнення зерна для оцінки рівня DON. Зерна, вражені фузаріозом, оцінюють для визначення резистентності типу IV, така оцінка вимагає практичного досвіду та часу [21]. В промисловому виробництві слід враховувати, що за III та IV механізмів захисту рослини можуть перетворювати сполуки, що синтезує збудник, на менш токсичні, продукуючи приховані мікотоксини, котрі не розпізнаються тест системами [22]. Під час перебігу захворювання, ці сполуки можуть накопичуватися в рослині в значних кількостях, без помітних негативних наслідків на урожай та якість, оскільки не є шкідливими для рослинного організму. Однак, існує вірогідність, що хімічні реакції, котрі далі відбуваються при переробці зерна для отримання продуктів харчування та кормів, а також під їх засвоєння організмом, можуть сприяти реконвенції прихованих мікотоксинів до їх початкових токсинних форм [23].

Резистентність типу V зазвичай описується як здатність певних генотипів мати вищі показники урожайності, порівняно з іншими генотипами, коли обидва мають однаковий рівень ураження збудником відносно неінокульованих контрольних груп. Однак, така оцінка стійкості не повністю враховує певні фактори, які могли б покращити результати, такі як терміни зараження та ступінь ураження зерна [21]. Використання оптичних сенсорів, що використовують гіперспектральні камери, спроможні забезпечити розпізнавання уражених та стійких фенотипів без інвазивних методів та значних затрат у часі. Сенсори, що здатні розпізнавати рослини на початкових етапах ураження фузаріозом та деференціювати їх залежно від виду збудника, можуть значно полегшити та пришвидшити фенотипну оцінку рослин [24].

1.2. Картування генів стійкості до фузаріозу

Молекулярні механізми формування стійкості до *Fusarium graminearum* пов'язані із генами з кількісним проявом, котрі було ідентифіковано на всіх

21 хромосомах пшениці м'якої. Від моменту першої публікації, в котрій згадують ген стійкості до фузаріозу (1999), було знайдено близько 500 *QTL* (рис.1.1). Однак, дані можуть перекриватися. Найбільша частка генів припадає на субгеном В – 238 генів, потім А - 192 та D - 121. Найбільше *QTL* локалізовано на хромосомах 3В (81), 5А (58) і 2D (57) [12,25]. Більшість *QTL* було ідентифіковано для резистентності II типу, що може бути пов'язаним, як було зазначено вище, із складністю та вищою вартістю оцінки інших типів стійкості [26]

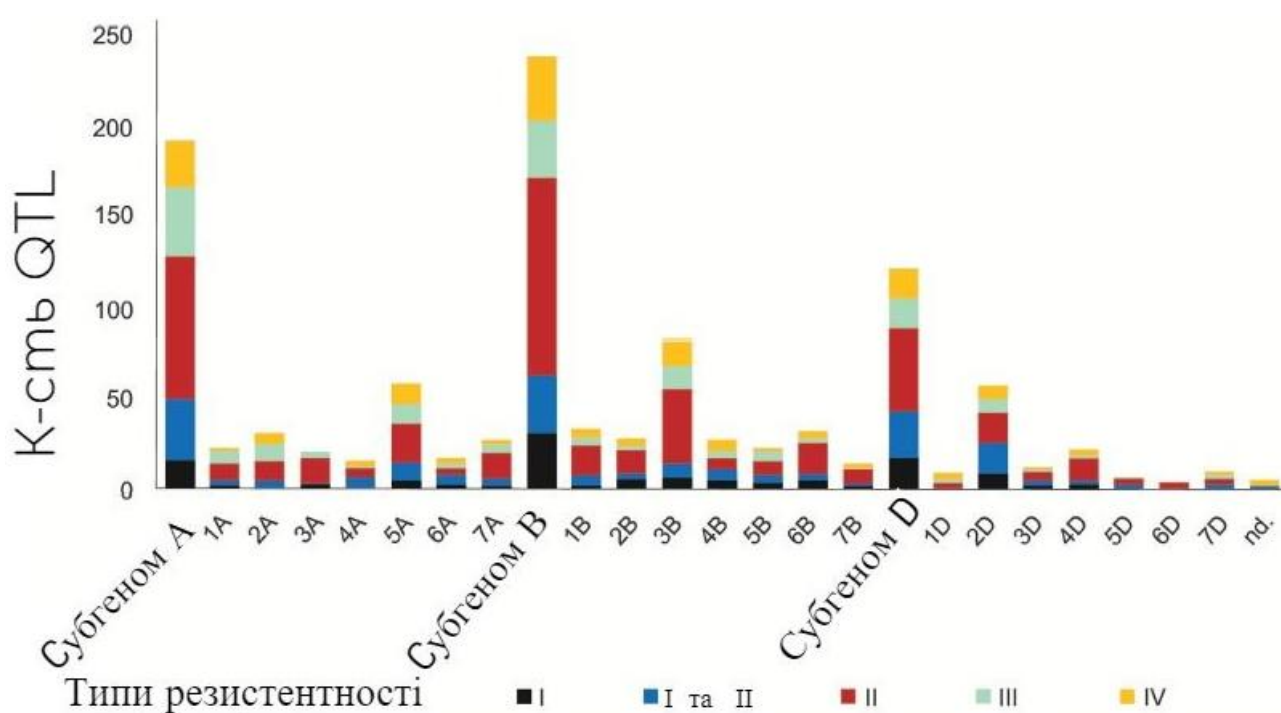


Рис.1.1 Розподіл *QTL* асоційованих зі стійкістю до фузаріозу в геномі пшениці [25].

Спадкування за Менделем було показано для семи генів: *Fhb1* (тип II), *Fhb2* (тип II), *Fhb3*, *Fhb4* (тип I), *Fhb5* (тип I і частково II), *Fhb6* (тип II) та *Fhb7* (табл. 1.2). Донором генів *Fhb1* та *Fhb2* слугує сорт Sumai 3, *Fhb3* походить від геному колосняка чорноморського (*Leymus racemosus*), *Fhb4* із сорту Wangshuibai, *Fhb5* – сортів Wangshuibai та Sumai 3, *Fhb6* від *Elymus tsukushiensis*, а *Fhb7* - *Thinopyrum ponticum* (табл. 1.3) [27-31].

Таблиця 1.2

Молекулярні локуси, асоційовані із генами резистентності до фузаріозу
пшениці [30-33]

Макери	Хромосома	Ген
<i>Xgwm493</i> - <i>Xgwm533</i>	3BS	<i>Fhb</i> 1
<i>Xgwm508</i> - <i>Xbarc79</i> ;	6BS	<i>Fhb</i> 2
?	7AS	<i>Fhb</i> 3
<i>Xbarc20</i> - <i>Xwmc349</i>	4BL	<i>Fhb</i> 4
<i>Xgwm293</i> - <i>Xbarc180</i>	5AS	<i>Fhb</i> 5
<i>KASPar</i> <i>Wg1s_snp1</i>	1AS	<i>Fhb</i> 6
<i>XsdauK66</i> – <i>Xcfa2240</i>	7DL	<i>Fhb</i> 7

Ген *Fhb1* є найкраще охарактеризованим локусом, що вирізняється серед інших найбільшим яскравим проявом і стабільною резистентністю серед популяцій. Повідомлялося, що *Fhb1* кодує пороутворюючий токсиноподібний білок (PFT) [34]. При дослідженні 40 сортів з добре описаними фенотипними проявами ознак фузаріозу, було виявлено 5 гаплотипів для ділянки *Fhb1*: один резистентний та чотири вразливі. PFT було ідентифіковано лише в двох гаплотипах (резистентному та одному вразливому), котрі відрізнялися одонуклеотидною заміною [35]. Інші дослідження не підтвердили ці дані про PFT, а показали, що розвиток резистентності у рослин забезпечує багатий на гістидин кальцій-зв'язуючий протеїн (His) й, на сьогодні, природа резистентності *Fhb1* залишається невизначеною [36]. Водночас, попри активне залучення до гібридизації,

фенотипний прояв *Fhb1* значно залежить від акцепторного геному [37]. Показано, що інтрогресія гену *Fhb1* в геном $\times$ *Triticosecale* забезпечує різні рівні стійкості серед популяцій, залежно від алелів інших *QTL* розташованих на 3В і 7В хромосомах, що в деяких випадках пояснювало близько 12% дисперсії між фенотипами [38].

Таблиця 1.3

Джерело походження *QTLs*, що залучені в формування стійкості до фузаріозу в пшениці, та їх локалізація на хромосомах

Локус	Джерело	Лок-ція	Пос-ння
<i>Fhb1</i>	<i>T. aestivum</i> (cv Sumai 3)	3BS	[5]
<i>Fhb2</i>	<i>T. aestivum</i> (cv Sumai 3)	6BS	[6]
<i>Fhb3</i>	<i>Leymus racemosus</i>	7AS	[7]
<i>Fhb4</i>	<i>T. aestivum</i> (cv Wangshuibai)	4BL	[8]
<i>Fhb5</i>	<i>T. aestivum</i> (cv Wangshuibai, Sumai 3)	5AS	[9]
<i>Fhb6</i>	<i>Elymus tsukushiensis</i>	1AS	[10]
<i>Fhb7</i>	<i>Thinopyrum ponticum</i>	7DL	[11]
<i>Qfhs.ifa-5A</i>	<i>T. aestivum</i> (line CM-82036)	5AL	[9]
<i>QFhb.crc-2D.1</i>	<i>T. aestivum</i> (lines Kenyon x 86ISMN 2137)	2DS	[42]
<i>QFhb.crc-2D.2</i>	<i>T. aestivum</i> (lines Kenyon x 86ISMN 2137)	2DS	
<i>QFhb.crc-2D</i>	<i>T. aestivum</i> (lines Kenyon x 86ISMN 2137)	2DS	
<i>QFhb.crc-2D.43</i>	<i>T. aestivum</i> (lines Kenyon x 86ISMN 2137)	2DL	
<i>QFhb.crc-4A.1</i>	<i>T. aestivum</i> (lines Kenyon x 86ISMN 2137)	4AS	
<i>QFhb.crc-4A.2</i>	<i>T. aestivum</i> (lines Kenyon x 86ISMN 2137)	4AL	
<i>QFhb.crc-4D</i>	<i>T. aestivum</i> (lines Kenyon x 86ISMN 2137)	4D	
<i>QFhb.crc-5B</i>	<i>T. aestivum</i> (lines Kenyon x 86ISMN 2137)	5B	
<i>QFhb.crc-7D</i>	<i>T. aestivum</i> (lines Kenyon x 86ISMN 2137)	7D	
<i>Qksu-fhbC-1AS</i>	<i>T. aestivum</i> (cv NC-Neuse)	1AS	[43]
<i>Qfhb.nc-1B</i>	<i>T. aestivum</i> (cv NC-Neuse)	1BS	
<i>Qksu-fhbE-1B</i>	<i>T. aestivum</i> (cv Everest)	1B	[17]
<i>Qksu-fhbE-4BL</i>	<i>T. aestivum</i> (cv Everest)	4BL	

Локус *Fhb2* включає декілька генів-кандидатів, що можуть бути відповідальними за формування резистентні до фузаріозу через кумулятивний ефект, або незалежно: 4-кумарат-КоА лігаза (4-Coumarate: CoA ligase), синтаза калози (CS), транскрипційний фактор (basic Helix Loop Helix transcription factor), глутатіон S-трансфераза (glutathione S-transferase),

ABC–транспортер 4 (ABC transporter-4), цинамілалкогольдегідрогеназа (cinnamyl alcohol dehydrogenase). Продукти цих генів залучені в низку функцій: синтез клітинної стінки (лігаза, синтаза, ТФ), транспорт DON із клітини (ABC transporter-4) зниження його токсичної дії (glutathione S-transferase), та регулювання відповіді на потрапляння патогену (ТФ) [39].

Також існують припущення відносно природи локусу *Fhb5*, оскільки у ліній, що несуть згадану послідовність, спостерігається підвищені рівні білка-переносника ліпідів (lipid transfer protein; LTP) [40].

При локалізації *SNP* локалізованих в межах генів розташованих на 3BS (*Fhb1*), 5AS (*Fhb5*), та 6BS (*Fhb2*), було показано, що ці гени часто успадковувалися гапоблоком. Зокрема, *Fhb1* та *Fhb5* розташовувалися відносно великими гапоблоками із пригніченою рекомбінацією [41].

Окрім основних семи генів було локалізовано безліч локусів, що роблять свій внесок у формування резистентності. На дистальній ділянці короткого плеча 1A, було знайдено локус *Qksu-fhbC-1AS*, прояв котрого значно пов'язаний із умовами навколишнього середовища [43]. В перицентроммерній ділянці 1B локалізовано локус *Qksu-fhbE-1B*, присутність котрого суттєво підвищувала опір до фузаріозу [17]. В інших сортах озимої пшениці було ідентифіковано локус *Qfhb.nc-1B*, розташований на короткому плечі 1B і пов'язаний із формуванням резистентності типу II [43]. На 1B хромосомі було знайдено *QTL*, колокалізований із локусом *Glu-B1*, що відповідає за хлібопекарські якості та стійкість до стеблової іржі. Інші *QTL* розташовані поряд із локусами, котрі асоційовані зі стійкістю до борошнистої роси та жовтої іржі розташовані на хромосомах 2D і 5B, відповідно [44].

На короткому плечі хромосоми 2D було локалізовано локуси *QFhb.crc-2D.1*, *QFhb.crc-2D.2*, *QFhb.crc-2D*, а також локус *QFhb.crc-2D.43* на довгому плечі [42]. Завдяки транскриптомному аналізу було виявлено асоційовані з хромосомою 2D також LRR-трансмембрану кіназу та АТФази 2 Р-типу, що необхідна для транспорту електронів під час фотосинтезу і *Su* та редокс-гомеостазу у хлоропластах та альфа-фукозидази. Всі ці ферменти

активуються у відповідь на інокуляцію патогеном рослин [45]. Також, дослідження метаболізму показали зв'язок транскрипційного фактору WRKY70 та трьох ферментів, гени котрих можуть виявитися *QTL* резистентності на 2DL [46].

На дистальному кінці хромосоми 4BL було локалізовано локус *Qksu-fhbE-4BL*, що залучений в формування резистентності II типу [17]. Також локуси резистентності було локалізовано на 4D та 4A (*QFhb.crc-4A.1*, *QFhb.crc-4A.2*, *QFhb.crc-4D*) [42].

На хромосомах 5A та 5B локалізовано локуси *Qfhs.ifa-5A* та *QFhb.crc-5B*, відповідно [42]. Також на 5AS було ідентифіковано локус *Qfhs.ifa-5A* (резистентність I типу) сорту пшениці Sumai 3. Повільний прогрес підвищення стійкості може бути пов'язаним із переважанням серед ознак, котрі намагаються інтегрувати, резистентності типу II при створенні нових ліній [47].

На 7D хромосомі, окрім *Fhb7*, було локалізовано 9 *QTL*, один з яких, *Fhb - 7EL*, походить від *Th. elongatum*. Донорами інших семи генів слугують різноманітні сорти *T. aestivum*, котрі можна розрізнити за допомогою мікросателітних локусів, найбільш інформативними для порівняння називають *Xwmc702*, *Xgwm437* та *Xgwm428* [29].

Використання локусів, що асоційовані із стійкістю до FHB, у геномних моделях селекції, значно покращує точність прогнозування передачі ознак [48]. Популяції, які несуть найбільш бажані ознаки або дають найбільш перспективні лінії, відбирають із зерна відповідного покоління або повністю відновлюють, а потім піддають аналізу з використанням мікросателітних локусів. Такий підхід збільшує ймовірність отримання рекомобінантно-інбредних ліній з корисними ознаками й дозволяє уникнути витрат часу та сил на проведення мікросателітного аналізу серед популяцій з низькою ймовірністю отримання покращених ліній внаслідок негативних міжгенних взаємодій, або відсутності генів інших важливих ознак [49]. Крім того, при оцінці ліній, що включають *QTL* різних типів стійкості, було показано, що

вони відрізняються вищим показником резистентності до ініціації інфекції, поширення захворювання, ураження зерна та накопичення DON, порівняно із їх стійкими батьківськими рослинами. Отримання таких рекомбінантно-інбредних ліній в подальшому може сприяти створенню нових джерел для привнесення ознак стійкості до фузаріозу серед сортів пшениці [50].

1.3. Джерела інтродукції генів стійкості у геном пшениці м'якої серед близькоспоріднених родичів та стійких фенотипів

Тверда пшениця характеризується вищою чутливістю до фузаріозу й в її геном швидше привносять гени стійкості від пшениці м'якої, ніж навпаки. Більшість сучасних сортів пшениці твердої варіюють від помірно до дуже чутливих. На короткому плечі хромосоми 3В пшениці твердої було знайдено *QTL*, що забезпечує значний рівень стійкості до фузаріозу. Він розташований на хромосомі поблизу локусу *Fhb1*, виявленого в гексаплоїдних сортах пшениці, однак було показано, що це різні локуси. Також, в твердої пшениці було знайдено *QTL* стійкості, розташований в теломерній ділянці на довгому плечі хромосоми 6В, що відрізняється від *Fhb2* пшениці м'якої [51].

При порівнянні резистентності нових сортів пшениці м'якої із більш давніми, останні відрізнялися вищим рівнем резистентності до фузаріозу, на рівні із *T. monosocum*, а найбільш стійкими виявилися *T. dicocum* та *Triticum spelta*: для них спостерігали найнижчий рівень ураження колосу та концентрації DON в зерні та ураження колосу [52]. У виду гексаплоїдної спельти *Triticum macha* було знайдено *QTL*, що залучені до формування резистентності II типу. Також, що зустрічається значно рідше, на 4AS було ідентифіковано *QTL* резистентності типу I, котру було успішно привнесено в геном пшениці м'якої [53]. При залученні *Triticum timopheevi* у ролі донора ознак стійкості, було отримано не лише стабільне підвищення резистентності серед нащадків, порівняно із чутливими до фузаріозу батьківськими рослинами, а й низьку кореляцію між небажаними агрономічними ознаками (наприклад, зменшення зерна, погіршення обмолоту) та стійкістю до

фузаріозу. Лінію «ТС 67» було отримано внаслідок системного добору серед генотипів за бажаними ознаками, що вказує на можливість перервати будь-який небажаний зв'язок через вибір відповідної комбінації бажаних ознак та стійкості до фузаріозу [54].

Було показано можливість використання у якості донора генів стійкості *E. repens*, у F2 популяціях було ідентифіковано присутність транслокації на хромосомах 3D [55]. В інших дослідженнях при схрещуванні *E. repens* із м'якою пшеницею для передачі генів стійкості нащадки в F2 характеризувалися високим рівнем стійкості 2 типу: вражалося від 5,6% до 11,5% представників порівняно з чутливими контрольними сортами пшениці м'якої 'Roblin' та 'Crocus' при 100 % і 85% відповідно [56]. При дослідженні іншого виду, що характеризується резистентністю до фузаріозу, *E. tsukushiensis* було картовано *QTL Fhb6*, що мав високий ступінь прояву. Для інтродукції цього гену в геном пшениці було ініційовано транслокацію між гомеологічними ділянками 1AS хромосоми пшениці та ділянкою із *Fhb6* від *E. tsukushiensis*. Нащадки, гомозиготні за *Fhb6*, мали фенотипний прояв захворювання близько 7% порівняно з 35% у випадку відсутності алелю [32].

Для *Thinopyrum intermedium* протягом трьох експериментальних років було ідентифіковано 15 *QTL* пов'язаних зі стійкістю до FHB на хромосомах 3,4,7, 9-14, 18, 21 [48]. *QTL* на дистальній ділянці довго плеча 7 хромосоми було успішно інтродуковано в геном пшениці м'якої, котрий характеризується зниженням виживаності грибів на 95%. [57]. Геном *Th. elongatum* характеризується колінеарністю й більшою спорідненістю до пшеничних субгеномів, порівняно, наприклад, із геномом рису, й може бути ефективно залученим у гібридизацію, як джерело нових генів резистентності [58]. Отримані від схрещування амфідиплоїди з часом стабілізують свій хромосомний набір і підвищують фертильність, що дає можливість отримання постійних ліній [59]. Внаслідок гібридизації *Th. elongatum* та $\times$ *Triticosecale* із *T. trititrigia* було отримано тригібрид, що відрізнявся високою резистентністю до фузаріозу та інших захворювань пшениці [60].

×*Triticosecale* характеризується наявністю, як генів, що забезпечують специфічний механізм стійкості (наприклад, зниження рівня DON), так і тих, що мають плейотропний ефект при формуванні стійкості до фузаріозу [61].

Одним із шляхів інтродукції нових генів стійкості до геному м'якої пшениці є створення штучних гексаплоїдів, що несуть в собі геноми тетраплоїдної пшениці та *Ae. tauschii* (AABBDD). *Ae. tauschii* має широкий ареал поширення, як у екологічних зонах, що є сприятливими для розвитку *Fusarium graminearum* Schw., так і зонах, де захворювання майже не зустрічається. У першому випадку, гени стійкості знаходяться під селективним тиском, а в другому, не знаходячись під жорстким добром, вони можуть вільно мутувати, набувають нові послідовності, що можуть в деяких випадках забезпечувати значний рівень стійкості [62]. Таким чином, для *Ae. tauschii* показано значно більшу генетичну різноманітність ознак стійкості при порівнянні із пшеницею м'якою, а інтрогресія генів *Ae. tauschii* в геном пшениці м'якої забезпечує кращу виживаність гексаплоїдів, порівняно з їх батьківськими рослинами. Штучні гексаплоїдні лінії вважають одним із пулів генів, що забезпечують стійкість до різноманітних хвороб пшениці, а також абіотичних та біотичних стресів, чи таких, що асоційовані з врожайністю. Однак, оскільки разом із селективними ознаками, гібриди несуть також і небажані, залучення їх генетичного матеріалу в лінії м'якої пшениці вимагає проведення беккросного схрещування [8,63]. Високий рівень стійкості до фузаріозу спостерігали в штучних гексаплоїдних лініях, що походили від схрещування *Ae. tauschii* та *T. durum* (27.6%), *T. polonicum* (55.5%), *T. turgidum* (45.2%), та *T. turanicum* (51.4%), водночас стійкість була на значно нижчому рівні у випадку, коли донором тетраплоїдного геному виступали *T. dicoccum* (16.0%) та *T. carthlicum* (11.0%). Порівняння ступеня тяжкості прояву фузаріозу між окремими лініями гексаплоїдів та їхніми тетраплоїдними батьками показало, що в нащадків захворювання прогресує слабше, особливо за умови високого тиску хвороби. Схожим чином стійкість до збудника варіювала, залежно від генотипів *Ae. tauschii*, що виступали

донорами D геному для новостворених штучних ліній. [64]. Автори дослідження вважають, що субгеном D може бути необхідним для активації експресії або збільшення експресії деяких *QTL*, розташованих на хромосомах A- та / або B-генома, або бути залученим в замовчуванні супресорів, присутніх у інших двох субгеномах, як було припущено раніше [65].

1.3.1. Трансгенна інтрогресія генів стійкості від інших видів в геном пшениці. Існують дослідження, що зосереджені на привнесенні чужорідних генів стійкості, або пошуку генів в пшеничному геномі, з використанням методів генетичної інженерії. Однак, створення трансгенних рослин несе в собі низку проблем, через складну взаємодію генних мереж. Наприклад, при отриманні ліній, що несуть в собі ген *NPR1*(*non-expressor of PR genes*) *A. thaliana*, спостерігали підвищення резистентності до фузаріозу колоса, водночас із зниженням стійкості до фузаріозу зерна при ураженні тим самим патогеном на різних етапах онтогенезу рослини. Ген кодує транскрипційний фактор, що залучений в шляхи регуляції захисної відповіді у багатьох рослин, включаючи рис, проте у пшениці відсутні ортологи цього гену. Зміни внаслідок експресії гену *NPR1* у пшениці приводили до отримання інвертованих фенотипів відносно вихідних сортів [66]. При отриманні ліній пшениці з високим рівнем експресії гену *Pvpgip2* (*polygalacturonase-inhibiting protein 2*), що походить з геному *Phaseolus vulgaris* L., спостерігали підвищення резистентності та зменшення поширення симптомів на навколишні колоси [67]. Трансгенна експресія гену ячменю *HvUGT13248*, що кодує уридин дифосфат-залежну глюкозилтрансферазу, забезпечила більш активне глюкозилювання DON в лініях пшениці м'якої та твердої, пригнічуючи поширення захворювання [68].

Розроблені системи для замовчування генів в представників триби *Triticeae*, котрі застосували для дослідження значення систем сигналювання жасмонової кислоти у забезпеченні стійкості пшениці до фузаріозу [69]. Значних рівнів стійкості до фузаріозу можна досягти шляхом впровадження чужинних генів з великими ефектами в елітні генотипи.

ЕКСПЕРЕМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

РОЗДІЛ 2

ОБ'ЄКТИ, МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Характеристика використаного рослинного матеріалу

Для аналізу використовували ДНК, виділену із листя гібридів F1 та батьківських рослин. Гібриди було отримано від схрещування озимих сортів пшениці м'якої *T. aestivum* L (AABBDD) Одеська 267, Панна, Вдала та Лелека (СГІ, національний центр насіннєзнавства та сортовивчення НААН) та пшениці *Triticum miguschovae* Zhiron (A^bA^bGGDD).

Пшениця Мігушової (*Triticum miguschovae* Zhiron (A^bA^bGGDD)) – це синтетичний гексаплоїдний вид пшениці, що включає в своєму геномі субгеном D від *Ae. tauschii* та субгеноми A^bA^bGG від штучного амфідиплоїда *T. militinae* (A^bA^bGG). *Triticum miguschovae* Zhiron є стійкою до фузаріозу та здатна утворювати фертильні гібриди із пшеницею м'якою, раніше використовувалася для створення низки стійких ліній до бурої іржі [70-72].

2.2. Виділення ДНК із рослинного матеріалу та вимірювання її концентрацій

ДНК виділяли за ЦТАБ-методом з попередньою гомогенізацією зразків у ступці з додаванням рідкого азоту. До отриманого гомогенату додали 400 мкл ЦТАБ-буферу (Cetyl TrimethylAmmonium Bromide buffer), рН 8 (табл. 2.1) з РНКазою (1мг/мл) та інкубували за 65°C протягом години на водяній бані. Потім провели депротейнізацію шляхом додавання однократного об'єму (400 мкл) суміші хлороформу та ізоамілового спирту (24:1), для кращого змішування фаз, гойдали протягом 10 хв на механічній мішалці. Зразки відцентрифугували протягом 10 хв за 10 000 об. Для осадження ДНК, до водної фази додали один об'єм ізопропанолу (30 хв/10 год за -20°C), відцентрифугували за 10 000 об 10 хв. Для очищення ДНК, осад промили 200

мкл 70% етанолу й розчини в 100 мкл 1х ТЕ-буферу (Tris-EDTA buffer), pH 8 (див. табл. 2.1).

Таблиця 2.1

Склад буферів для екстракції та зберігання ДНК

ЦТАБ-буфер (pH 8)		ТЕ-буфер (pH 8)	
CTAB	2 гр	1 M Tris, pH 7,4	1 мкл
0,5 M EDTA	4 мл	0,5 M EDTA, pH 8,0	0,2 мкл
1 M Tris-HCL	10 мл	Кінцевий об'єм довести до 100 мл dH2O	
5 M NaCl	28 мл		
Кінцевий об'єм довести до 100 мл dH2O			

Вимірювання концентрації проводили на приладі СФ-2000. Вимірювання приладом здійснювали в трьох спектрах : 230нм (спектр поглинання цукрів сполук), 260 нм(спектр поглинання нуклеїнових кислот) та 280 нм (спектр поглинання білків).

Концентрацію досліджуваних розчинів визначили за формулою: $C = D_{260} \cdot K \cdot x$, де D_{260} – показник поглинання нуклеїнових кислот, K – коефіцієнт (50/40 для ДНК), x - розведення.

2.3. Проведення полімеразно-ланцюгової реакції (ПЛР)

Реакційну суміш (25μl) готували за наступними прописами (на один зразок):

Буфер*	2,5μl	Праймер R	2μl
dNTPs*	2,5μl	Праймер L	2μl
MgCl ₂ (25 mM)*	1,5μl	dH ₂ O	9,3μl
Taq Pol (5U/μl)*	0,2μl	DNA (5ηg/μl)	5μl

*- Thermo Fisher Scientific©

Далі провели ампліфікацію з наступними умовами:

94 °C – 600 с

94 °C - 30 с (денатурація)	} 35 циклів
60 °C - 30 с (аннелінг)	
72 °C - 30 с (елонгація)	
72 °C – 600 с (10хв)	

Використали нуклеотидні праймери (стокові концентрації 100 pg/μl) до мікросателітних послідовностей, що локалізовані на хромосомах пшениці м'якої для пошуку поліморфізмів. Їхні послідовності на додатку А.

2.4. Постановка акриламідного гелю-електрофорезу

Продукти ПЛР електрофоретично розділяли в 8% поліакриламідному гелі з додаванням 6М сечовини (табл. 2.2). Спочатку заливали й чекали на полімеризацію пробки, а після полімеризації гелю «зшивали» з поверхнею скла, наносячи на його поверхню 3 краплі розчину силану (1 мл оцтової к-ти, 10 мл етиловий спирт, 50μl 3-Methacryloxypropyl trimethoxy silane), котрий попередньо відстоявся декілька днів. Ініціатором полімеризації гелю слугував 10% розчин персульфату амонію (ammonium persulfate, PSA), а каталізатором реакції – TEMED (Tetramethylethylenediamine). Зразки ДНК попередньо інкубували із буфером нанесення (950 μl формаміду, 50μl ЕДТА, бромфеноловий, ксилен ціанол) за 95°C 5 хв, потім переносили на лід (0°C). В слоти вносили 8-15 мкл зразку.

Таблиця 2.2

Склад поліакриламідного гелю (розрахунок на 40мл)

концентрація компоненти	8%
30% Акриламід	10,67 мл
2% Метилен-бісакриламід	6 мл
Сечовина	19, 2 г

Прод. табл. 2.2

SB-буфер	До 40 мл
10% р-н PSA	480 мкл
TEMED	20 мкл

Зразки розділяли протягом 3-6 годин, за напруги 10-60 В. Після проводили фіксацію та фарбування сріблом (табл. 2.3). Гель промивали дистильованою водою перед кожним розчином, потім занурювали на 8-10 хв в розчин для фіксації, на 10-11 хв в розчин нітрату срібла та на 20 хв в розчин відновлення.

Таблиця 2.3

Розчини для фарбування акриламідного гелю

Р-н фіксації (8-10 хв)		Р-н нітрату срібла (10-11 хв)		Р-н відновлення (20 хв)	
етанол 96%	100 мл	AgNO ₃	1.5 гр	45% NaOH	33 мл
оцтова к-та	5 мл	формалін	2.4 мл	формалін	2 мл
Кінцевий об'єм довести до 1 л dH ₂ O					

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХНЄ ОБГОВОРЕННЯ

Було проаналізовано 31 локус мікросателітних послідовностей з відомою хромосомною та субгеномною локалізацією (рис. 3.1) для пошуку поліморфізмів серед представників F1 від схрещування пшениці Мігушової та сортів пшениці м'якої. З них продукт було отримано для 21 локусу, поліморфними з них виявилися 11, котрі відрізнялися між батьківськими формами (рис. 3.2,3.3), а тих, що мали унікальний продукт для гібридних рослин, - 5.

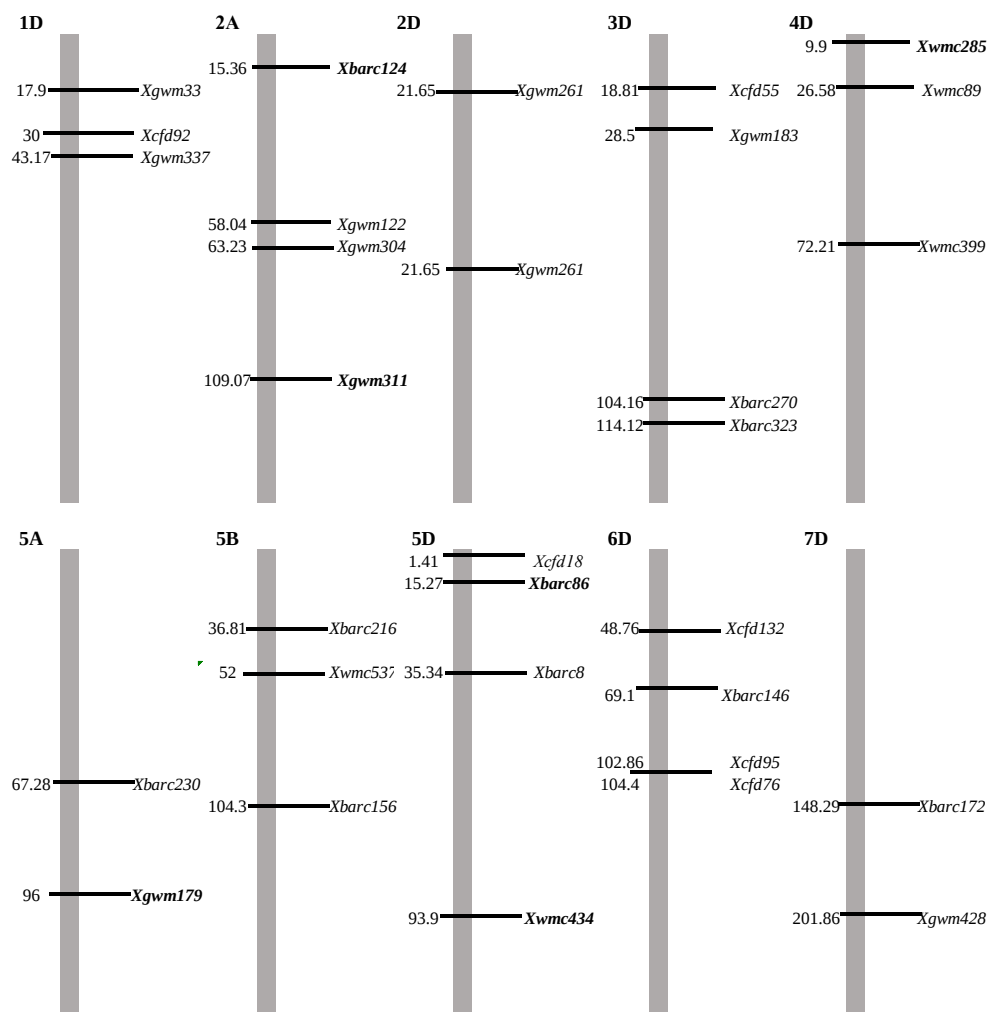


Рис. 3.1. Хромосомна локалізація локусів мікросателітів, використані для аналізу. Напівжирним виділено ті, з котрими було отримано унікальний поліморфний продукт для F1: 2A – *Xgwm311*, 4D – *Xwmc285*, 5A – *Xgwm179*, 5D – *Xwmc434*, *Xbarc86*.

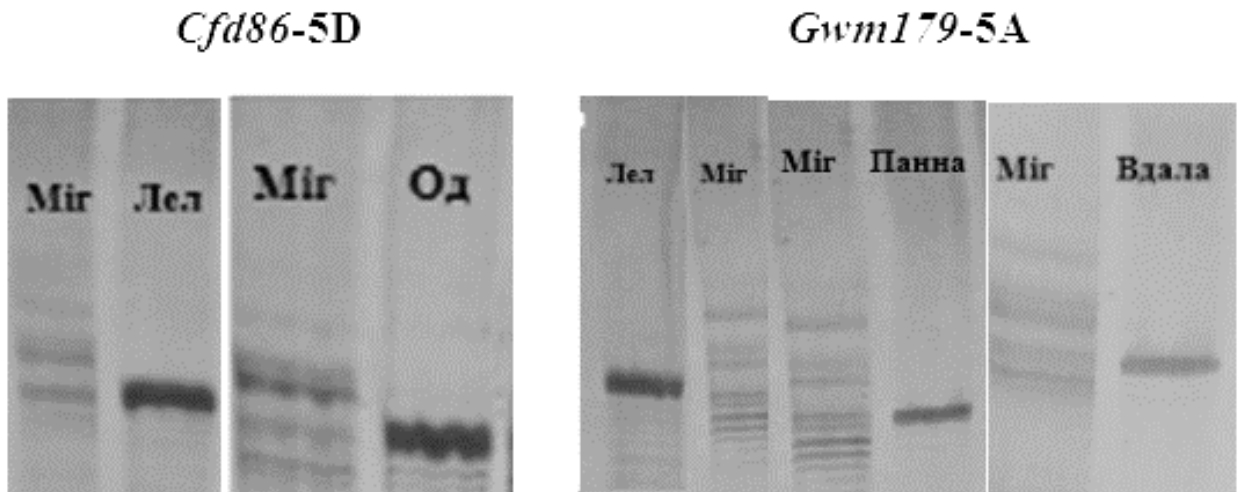


Рис. 3.2. Поліморфізм за локусами *Xcfd86-5D* та *Xgwm179-5A* між пшеницею Мігушової і сортами пшениці м'якої: Міг – пшениця Мігушової; Лел – сорт Лелека; Од – сорт Одеська 267; Пан – сорт Панна; Вд – сорт Вдала.

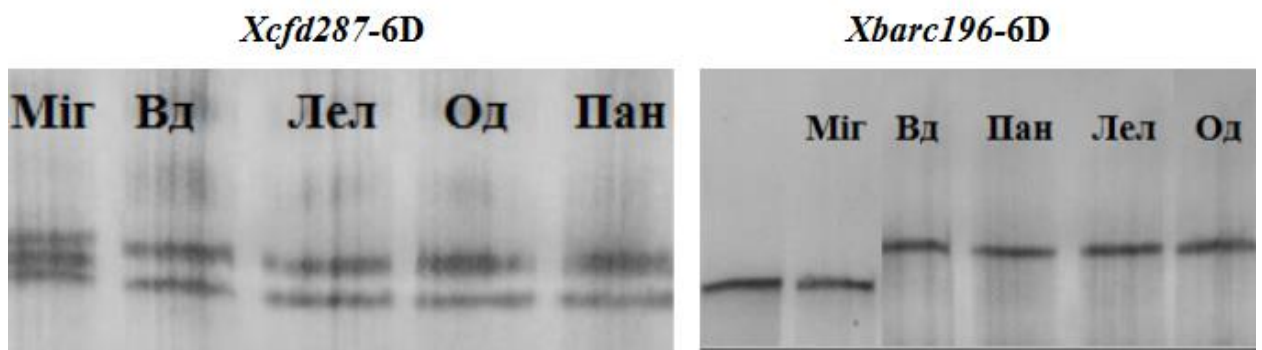


Рис. 3.3. Поліморфізм за локусами *Xcfd287-6D* та *Xbarc196-6D* між пшеницею Мігушової і сортами пшениці м'якої: Міг – пшениця Мігушової; Лел – сорт Лелека; Од – сорт Одеська 267; Пан – сорт Панна; Вд – сорт Вдала.

Для хромосоми 1D у зразках ДНК пшениці Мігушової при використанні праймерів до локусів *Xcfd92* (рис. 3.4) та *Xgwm337* отримали нуль-алель, а у сортів та F1 спостерігали однакову кількість компонентів. Також подібні результати отримали із локусами до 2D (*Xgwm539*, *Xgwm261*) та 3D хромосом (*Xbarc270*, *Xbarc323*, *Xgwm183*, *Xcfd55*): продукт був мономорфним, чи відсутнім (табл. 3.1).

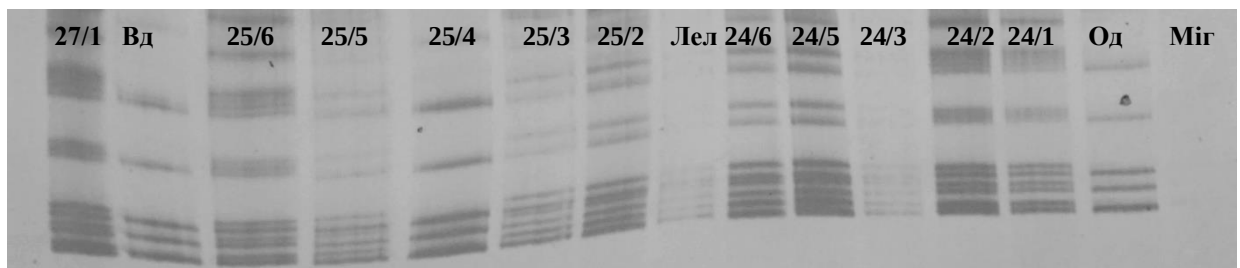


Рис. 3.4. Електрофоретичний спектр продуктів ампліфікації з праймерами до мікросателітного локуса *Xcfd92*: Міг – пшениця Мігушової; Од – сорт пшениці м'якої Одеська; 24 – нащадки F1 від схрещування між пшеницею Мігушової та сорту Одеська; Лел – сорт пшениці м'якої Лелека; 25 – нащадки F1 від схрещування між пшеницею Мігушової та сорту Лелека; Вд – сорт м'якої пшениці Вдала; 27 і 29 – нащадки F1 від схрещування між пшеницею Мігушової та сорту Вдала.

Таблиця 3.1

Компоненти продуктів ПЛР у ПААГ, отримані за аналізованими
локусами на хромосомах 1D, 2D, 3D

Локалізація	Локус	<i>T.miguschovae</i>	F1	Сорти
1D	<i>Xgwm 33</i>	Продукт відсутній		
	<i>Xcfd 92</i>	0	3-4	+ (3-4)
	<i>Xgwm 337</i>	0	1	+(1)
2D	<i>Xgwm539</i>	Продукт відсутній		
	<i>Xgwm261</i>	Мономорфний продукт		

Прод. табл. 3.1

3D	<i>Xbarc 270</i>	Мономорфний продукт
	<i>Xbarc 323</i>	Продукт відсутній
	<i>Xgwm 183</i>	Мономорфний продукт
	<i>Xcfd 55</i>	Мономорфний продукт

Примітки: + - наявність компонента в спектрі акриламідного гелю, в дужках вказано їх кількість (алелі відрізняються в пшениці Мігушової та сортів)

Для 2А хромосоми було використано 4 мікросателітні локуси з котрих інформативними виявилися 3: праймери до локусів *Xbarc124* та *Xgwm122* ампліфікувалися з отриманням різних алелів для пшениці Мігушової та сортів, всі компоненти були представлені в спектрах їх нащадків; для *Xgwm311* (рис. 3.5) було отримано 3 компоненти на спектрі акриламідного гелю у зразках пшениці Мігушової та нуль-алель у зразках сортів пшениці м'якої (Одеська 267), водночас, для їхніх нащадків спектр отриманих продуктів містив від 0 до 7 компонентів (табл. 3.2). Поява додаткових компонентів на спектрах нащадків від схрещування, які не зустрічаються у батьківських форм, може бути оцінена, як можлива присутність перебудов на ділянці довгого плеча.

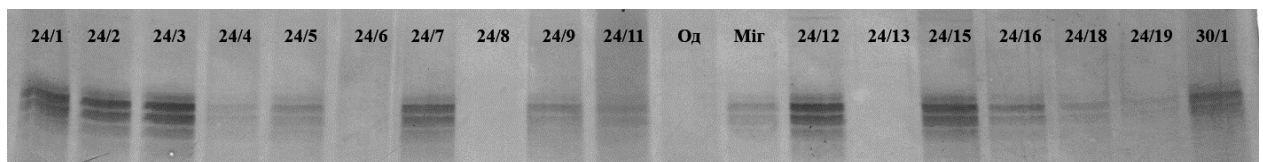


Рис. 3.5. Електрофоретичний спектр продуктів ампліфікації з праймерами до мікросателітного локуса *Xgwm311*: Міг – пшениця Мігушової; Од – сорт пшениці м'якої Одеська; 24 та 30 – нащадки F1 від схрещування між пшеницею Мігушової та сорту Одеська.

Таблиця 3.2

Компоненти продуктів ПЛР у ПААГ, отримані за аналізованими
локусами на хромосомах 2A,4D

Локалізація	Локус	<i>T.miguschovae</i>	F1	Сорти
2A	<i>Xgwm304</i>	Продукт відсутній		
	<i>Xbarc124</i>	+ (2)	Гетерозигота (4)	+ (2)
	<i>Xgwm122</i>	+ (1)	1-2	+ (1)
	<i>Xgwm311</i>	+ (3)	0-7	0
4D	<i>Xwmc 399</i>	Продукт відсутній		
	<i>Xwmc 89</i>	+ (1)	Гетерозиготи (3)	+ (2)
	<i>Xwmc 285</i>	Поліморфний продукт		

Примітки: + - наявність компонента в спектрі акриламідного гелю, в дужках вказано їх кількість (алелі відрізняються в пшениці Мігушової та сортів)

Для 4D хромосоми використали праймери до локусів короткого плеча *Xwmc89* та *Xwmc285*. При ампліфікації праймерів до *Xwmc89* на електрофоретичному спектрі пшениці Мігушової отримали один компонент, для сортів 2, а їх нащадки мали всі три компоненти. Для праймерів до *Xwmc285* отримали поліморфні компоненти. Водночас, не було отримано продукту до мікросателітного локусу, розташованого на довгому плечі, *Xwmc399* (див. табл. 3.2).

Для 5A хромосоми було отримано продукт із локусами *Xbarc230* та *Xgwm179* (рис. 3.6). Для *Xbarc230* компоненти були мономорфними; для *Xgwm179* у зразка ДНК виділеної із пшениці Мігушової спостерігали декілька компонентів (10), коли для сортів (Лелека та Вдала) був присутній лише один компонент, а для нащадків від їх схрещування 1-7 (табл. 3.3).

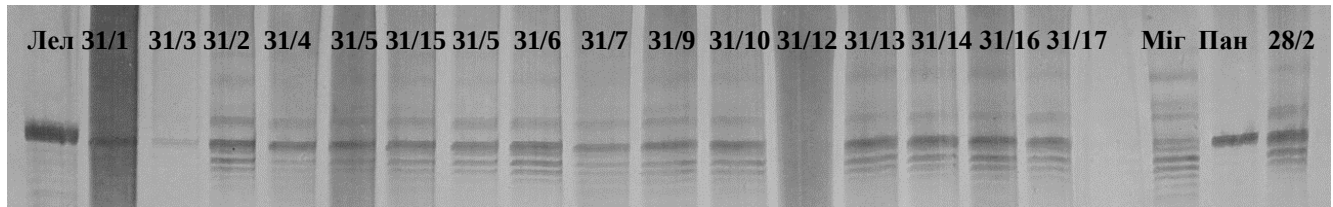


Рис. 3.6. Електрофоретичний спектр продуктів ампліфікації з праймерами до мікросателітного локуса *Xgwm179*: Міг – пшениця Мігушової; Лел – сорт пшениці м'якої Лелека; 31 – нащадки F1 від схрещування між пшеницею Мігушової та сорту Лелека; Пан – сорт пшениці м'якої Панна; 28 – F1 від схрещування між пшеницею Мігушової та сорту Панна.

Для аналізу 5В хромосоми використані праймери або давали мономорфний продукт (*Xbarc156*, *Xwmc537*), або, взагалі, продукт був відсутній (*Xbarc216*), що не дає можливості використовувати ці локуси для аналізу (див. табл. 3.3).

Для 5D хромосоми локуси *Xbarc8*, *Xbarc18* характеризувалися мономорфними продуктами ПЛР, водночас, для *Xbarc86* та *Xwmc434* отримали відмінні від батьківських компоненти електрофоретичного спектру для нащадків F1. Для зразків ДНК пшениці Мігушової внаслідок ампліфікації із праймерами до *Xbarc86* отримали 1 компонент, для сортів – 2 (Одеська 267, Лелека, Панна), а для нащадків від їхнього схрещування - близько 10. У випадку використання праймерів до *Xwmc434*: 3 – пшениця Мігушової, 1-3 – сортів та поліморфні компоненти – F1 (див. табл. 3.3).

Таблиця 3.3

Компоненти продуктів ПЛР у ПААГ, отримані за аналізованими локусами на хромосомах 5A,5B,5D

Локалізація	Локус	<i>T.miguschovae</i>	F1	Сорти
5A	<i>Xbarc230</i>	Мономорфний продукт		
	<i>Xgwm179</i>	+ (10)	1 - 7	+ (1)

Прод. табл. 3.3

5B	<i>Xbarc156</i>	Мономорфний продукт		
	<i>Xwmc537</i>	Мономорфний продукт		
	<i>Xbarc216</i>	Продукт відсутній		
5D	<i>Xbarc86</i>	+ (1)	Поліморф. пр.	+ (2)
	<i>Xbarc 8</i>	Мономорфний продукт		
	<i>Xcfd18</i>	Мономорфний продукт		
	<i>Xwmc 434</i>	+ (3)	Поліморф. пр.	+ (1-3)

Примітки: + - наявність компонента в спектрі акриламідного гелю, в дужках вказано їх кількість (алелі відрізняються в пшениці Мігушової та сортів)

Для 6D хромосоми в 3 локусів продукт був відсутній, а для *Xbarc 196* отримали один компонент для пшениці Мігушової, інший алель для сортів, а в їх нащадків були присутні обидва варіанти (гетерозигота) (табл. 3.4).

Для 7D продукт був відсутній для мікросателітного локуса *Xgwm428* та мономорфний для *Xbarc172* (див. табл. 3.4).

Таблиця 3.4

Компоненти продуктів ПЛР у ПААГ, отримані за аналізованими локусами на хромосомах 6D,7D

Локалізація	Локус	<i>T.miguschovae</i>	F1	Сорти
6D	<i>Xcfd 132</i>	Продукт відсутній		
	<i>Xbarc 196</i>	+ (1)	гетерозигота	+ (1)
	<i>Xcfd 76</i>	Продукт відсутній		
	<i>Xcfd 95</i>	Продукт відсутній		
7D	<i>Xgwm428</i>	Продукт відсутній		
	<i>Xbarc172</i>	Мономорфний продукт		

Примітки: + - наявність компонента в спектрі акриламідного гелю, в дужках вказано їх кількість (алелі відрізняються в пшениці Мігушової та сортів)

У сортів пшениці м'якої та пшениці Мігушової відрізнялися алелі мікросателітних локусів, що розташовані на хромосомах 2A (*Xbarc124*, *Xgwm122*, *Xgwm311*), 5A (*Xgwm179*), 1D (*Xcfd 92*, *Xgwm 337*), 4D (*Xwmc 89*), 5D (*Xbarc86*, *Xwmc 434*), 6D (*Xbarc 196*). Оскільки алелі мікросателітних локусів спадкуються кодомінантно, в нащадків від схрещування пшениці м'якої та пшениці Мігушової спостерігали алелі від обох батьківських рослин. Зазначені мікросателітні локуси можна використовувати для ефективної ідентифікації гібридних рослин. Крім того, за деякими мікросателітними локусами з'являлися поліморфні продукти, що були унікальними для гібридних рослин. Вони локалізовані на хромосомах 2A, 5A, 4D, 5D. Наявність поліморфізмів у отриманих зразках може вказувати на молекулярні зміни, що відбуваються внаслідок поєднання в геномах гібридів генетичного матеріалу пшениці Мігушової та пшениці м'якої й слугувати підґрунтям для добору рослин шляхом мікросателітного аналізу.

УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Використання мікросателітного аналізу виявляється потужним засобом для добору генів резистентності, а також полегшує контроль за утриманням значної частини батьківського хроматину в популяціях наступних генерацій [33].

Зв'язок із локусами резистентності раніше було показано в роботах інших дослідників для локусів *Xbarc124* (QTL пов'язаний із контролем рівня DON), *Xgwm122*, *Xgwm311* та *Xgwm539* [73-75]. Під час використання цих локусів у нашому дослідженні, інформативними виявилися маркери *Xbarc124*, *Xgwm122*, *Xgwm311*, крім того, для *Xgwm311* отримали поліморфний продукт. Також, поліморфним виявився продукт отриманий для локусів локалізованих на 4D, 5A та 5D хромосомах (табл. 3.4). Присутність специфічних компонентів спектру дає можливість використовувати зазначені локуси для спостереження і за динамічними процесами в гібридних геномах, що містять в своєму складі компоненти геному *Triticum miguschovae* Zhiron (A^bA^bGGDD)).

Таблиця 3.4

Мікросателітні локуси за котрими отримали унікальні поліморфні продукти для F1

Хромосома	2A	4D	5A	5D
Мікросателітний локус	<i>Xgwm311</i>	<i>Xwmc 285</i>	<i>Xgwm179</i>	<i>Xbarc86</i> <i>Xwmc 434</i>

Важливість розробки інформативної системи мікросателітних локусів для дослідження молекулярних перебудов у гібридних геномах пов'язана із

отриманням швидкого та надійного методу аналізу, що значно спрощує вивчення та добору ознак інтересу. Використання молекулярних локусів дає можливість попередньо генотипувати рослини на початку створення рекомбінантно-інбредних ліній та забезпечує моніторинг ділянок інтрогресії чужинного хроматину [76]. Перспективним є поєднання мікросателітного аналізу та цитогенетичних методів [77]. Для значної кількості фунгіальних захворювань пшениці описано локалізацію локусів пов'язаних з формуванням стійкості із залученням мікросателітних локусів [78-80]. Загалом, застосування мікросателітних локусів широко використовується для дослідження варіабельності в геномах важливих сільськогосподарських культур для добору та покращення їх агрономічних характеристик [81]. Використання мікросателітних локусів разом із фенотипною оцінкою дає можливість комплексної оцінки прояву ознаки та її хромосомної локалізації. Оскільки, фенотипний прояв рівня стійкості залежить від епістатичних взаємодій, як між генами, що забезпечують стійкість до фузаріозу, так і генами, що кодують інші ознаки, що, як було зазначено раніше, вимагає часу та досвіду. Наприклад, на майже-ізогенних лініях, що несли комбінації генів резистентності від сорту Sumai 3, було визначено статистично значущі епістатичні взаємодії серед генів *Fhb1*, *Fhb2* та *Fhb5* [41]. Наявність адитивного ефекту при взаємодії великої кількості *QTL*, що розкидані на різних хромосомах й кодують не лише стійкість до фузаріозу, було підтверджено на рекомбінантно-інбредних лініях від схрещування між сортами ярої пшениці. Однак, епістатична взаємодія, на відміну від основних генів стійкості, для мінорних локусів знаходилася на низькому рівні, або мала негативний ефект, що значно ускладнювало їхній пошук та ідентифікацію [42].

Показано, що на 3BS хромосомі, окрім гену *Fhb1*, було локалізовані ще два гени стійкості до патогенних грибів: ген *Sr2* (забезпечує стійкість до стеблової іржі) та *SNB* (стійкість до септоріозу). Створення групи зчеплення

між цими трьома генами суттєво б підвищило загальну виживаність рослин до хвороб із фунгіальною етіологією [82]. Також, з ефективністю прояву резистентності пов'язують локуси *Rht-B1b* та *Rht-D1b* (асоційовані з висотою стебла) [37], *Ppd-D1b* (чутливість до довжини світлового дня) [42]. Водночас, негативний зв'язок між геном *Fhb1* було показано для концентрації білку та маси зерна, що значно впливає на агрономічні якості [73]. Також було показано збереження в гібридних геномах цілої низки мінорних генів стійкості з незначним адитивним ефектом, котрі були залучені від резистентних дикорослих родичів, таких як, наприклад, *T. timopheevii* [83]. Загалом, використання близькоспоріднених видів у якості джерела пулу генів стійкості до фузаріозу колосу, та інших абіотичних та біотичних чинників, є одним із найбільш ефективних засобів розширення варіабельності серед популяцій пшениці м'якої. Використання тетраплоїдних видів пшениці, та створення шляхом аллоплоїдизації на їх основі штучних гексаплоїдних форм, здатне забезпечити успішну інтродукцію нових генів з корисними властивостями в геном пшениці м'якої [21].

На довготривалий успіх отримання стійких сортів впливає ціла низка факторів: характер збудника та різноманітність вірулентності у популяції; присутні типи генетичної резистентності; доступна методологія детекції та умови добору для відстеження стійкості. Крім того, під час добору стійких сортів слід оцінювати різноманітні агрономічні ознаки, включаючи висоту рослин та особливості цвітіння в комплексі із показниками чутливості до фузаріозу, щоб визначити їх зв'язок із розвитком захворювання. Застосування молекулярних локусів значно доповнює класичну селекцію, пришвидшуючи отримання інформації для аналізу [54,84]. Використання мікросателітних послідовностей для аналізу використаних у дослідженні генотипів гібридів F1 пшениці м'якої та пшениці Мігушової виявилось продуктивним для генетичного маркування структури хромосом з кількох гомологічних груп різних субгеномів. Наявна інформація про алельний склад є важливою для

подальшого фенотипування рослин з інтрогресіями від пшениці Мігушової на стійкість до фузаріозу. За даними мікросателітного аналізу не можна однозначно визначити всі хромосоми пшениці Мігушової, що будуть привнесені в геном отриманих гібридів. До мікросателітних локусів необхідно додати також результати вивчення поліморфізму між пшеницею Мігушової та сортами пшениці м'якої за генами запасних білків та ферментів, що значно підвищить ефективність ідентифікації хромосом, що мають походження від геному пшениці Мігушової [85].

ВИСНОВКИ

1. Аналіз геномів *Triticum aestivum* L. та *Triticum miguschovae* Zhir. за допомогою поліморфних мікросателітних локусів є ефективним методом для ідентифікації, як інтрогресій чужинного хроматину, так і вивчення молекулярних перебудов у гібридних рослин.
2. Для порівняння послідовностей в геномах *Triticum aestivum* L. та *Triticum miguschovae* Zhir. та дослідження геномів нащадків від їхнього схрещування можна використовувати мікросателітні локуси до хромосом пшениці м'якої 2A (*Xbarc124*, *Xgwm122*, *Xgwm311*), 5A (*Xgwm179*), 1D (*Xcfd92*, *Xgwm337*), 4D (*Xwmc89*, *Xwmc285*), 5D (*Xbarc86*, *Xwmc 434*), 6D (*Xbarc 196*).
3. Унікальний поліморфний проодукт в гібридних геномах було отримано з праймерами до 2A (*Xgwm311*), 5A (*Xgwm179*), 4D (*Xwmc 89*), 5D (*Xbarc86*, *Xwmc434*).

ВИКОРИСТАНІ ДЖЕРЕЛА

1. Cowger C, Smith J, Boos D, Bradley CA, Ransom J, Bergstrom GC. Managing a destructive, episodic crop disease: A national survey of wheat and barley growers' experience with fusarium head blight. *Plant Dis.* 2020 Mar;104(3):634–48.
2. Goswami RS, Kistler HC. Heading for disaster: *Fusarium graminearum* on cereal crops. *Mol Plant Pathol.* 2004 Nov 1;5(6):515-25.
3. Juroszek P, Von Tiedemann A. Linking plant disease models to climate change scenarios to project future risks of crop diseases: A review. *J Plant Dis Prot.* 2015 Feb;122(1):3–15.
4. Góral T, Wiśniewska H, Ochodzki P, Nielsen LK, Walentyn-Góral D, Stępień Ł. Relationship between fusarium head blight, kernel damage, concentration of fusarium biomass, and fusarium toxins in grain of winter wheat inoculated with *fusarium culmorum*. *Toxins (Basel).* 2018 Dec 21;11(1):2.
5. Haile JK, N'Diaye A, Walkowiak S, Nilsen KT, Clarke JM, Kutcher HR, et al. Fusarium head blight in durumwheat: Recent status, breeding directions, and future research prospects. *Phytopathology.* 2019 Oct;109(10):1664-75.
6. Buerstmayr H, Ban T, Anderson JA. *QTL* mapping and marker-assisted selection for Fusarium head blight resistance in wheat: A review. *Plant Breed.* 2009 Jan; 128(1):1 - 26.
7. Halder J, Zhang J, Ali S, Sidhu JS, Gill HS, Talukder SK, et al. Mining and genomic characterization of resistance to tan spot, *Stagonospora nodorum* blotch (SNB), and Fusarium head blight in Watkins core collection of wheat landraces. *BMC Plant Biol.* 2019 Nov;19(1):1–15.
8. Das MK, Bai G, Mujeeb-Kazi A, Rajaram S. Genetic diversity among synthetic hexaploid wheat accessions (*Triticum aestivum*) with resistance to several fungal diseases. *Genet Resour Crop Evol.* 2016 Nov 9;63(8):1285–96.
9. Fedak G. Alien introgression in wheat: Cytogenetics, molecular biology, and genomics. Switzerland: Springer International Publishing; 2015. Chapter 8, Alien

Introgressions from wild Triticum species, *T. monococcum* , *T. urartu* , *T. turgidum*, *T. dicoccum* , *T. dicoccoides* , *T. carthlicum* , *T. araraticum* , *T. timopheevii*, and *T. miguschovae*; 191–219.

10. Антонюк М. З., Штефюк Т. В., Терновська Т. К. Мікросателітний аналіз стійких до борошнистої роси інтрогресивних ліній м'якої пшениці різного походження. Фактори експериментальної еволюції; 2015.16:21–5.

11. Gilbert J, Tekauz A. Review: Recent developments in research on fusarium head blight of wheat in Canada. Can J Plant Pathol. 2000 Dec;22(1):1–8.

12. Buerstmayr M, Steiner B, Buerstmayr H. Breeding for Fusarium head blight resistance in wheat—Progress and challenges. Plant Breed [Internet]. 2019 Nov [cited 2020 Mar 19] :1–26. Available from: <https://doi.org/10.1111/pbr.12797>

13. Lemmens M, Steiner B, Sulyok M, Nicholson P, Mesterhazy A, Buerstmayr H. Masked mycotoxins: Does breeding for enhanced Fusarium head blight resistance result in more deoxynivalenol-3-glucoside in new wheat varieties? World Mycotoxin J [Internet]. 2016 Jun 13 [cited 2020 Mar 19];9(5):741 - 754. Available from: <https://doi.org/10.3920/WMJ2015.2029>

14. Zhao L, Ma X, Su P, Ge W, Wu H, Guo X, et al. Cloning and characterization of a specific UDP-glycosyltransferase gene induced by DON and Fusarium graminearum. Plant Cell Rep. 2018 Apr;37(4):641–52.

15. He F, Pasam R, Shi F, Kant S, Keeble-Gagnere G, Kay P, et al. Exome sequencing highlights the role of wild-relative introgression in shaping the adaptive landscape of the wheat genome. Nat Genet [Internet]. 2019 June 13 [cited 2020 Mar 19];51(5):896–904. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41588-019-0382-2>

16. He X, Dreisigacker S, Singh RP, Singh PK. Genetics for low correlation between Fusarium head blight disease and deoxynivalenol (DON) content in a bread wheat mapping population. Theor Appl Genet [Internet]. 2019 Aug 01[cited 2020 Mar 20];132(8):2401–11. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00122-019-03362-9>

17. Lemes da Silva C, Fritz A, Clinesmith M, Poland J, Dowell F, Peiris K. *QTL* mapping of Fusarium head blight resistance and deoxynivalenol accumulation in the Kansas wheat variety 'Everest.' *Mol Breed*. 2019 Feb; 39(35):1-21.
18. Martin C, Schöneberg T, Vogelgsang S, Morisoli R, Bertossa M, Mauch-Mani B, et al. Resistance against Fusarium graminearum and the relationship to β -glucan content in barley grains. *Eur J Plant Pathol*. 2018 Jun;152:621–34.
19. Laml P., Pánek. Winter wheat Baletka. *Czech J*. 2008 Jan; 44(4):167-68.
20. Bai G, Shaner G. Management and Resistance in Wheat and Barley To Fusarium Head Blight. *Annu Rev Phytopathol*. 2004;42(1):135–61.
21. Saharan MS. Current status of resistant source to Fusarium head blight disease of wheat: a review. *Indian Phytopathol* [Internet]. 2020 Mar [cited 2020 Mar 27];73(1):3–9. Available from: <https://doi.org/10.1007/s42360-019-00186-x>
22. Galaverna G, Dallsta C, Mangia MA, Dossena A, Marchelli R. Masked mycotoxins: An emerging issue for food safety. *Czech J Food Sci*. 2009 Jan 29;27(1):89–92.
23. Franz Berthiller, Chris M. Maragos and Chiara Dall'Asta. Masked Mycotoxins in Food: Formation, Occurrence and Toxicological Relevance. *Royal Society of Chemistry*;2015. Chapter 1, Introduction to Masked Mycotoxins;1-13.
24. Alisaac E, Behmann J, Kuska MT, Dehne HW, Mahlein AK. Hyperspectral quantification of wheat resistance to Fusarium head blight: comparison of two Fusarium species. *Eur J Plant Pathol*. 2018 May;152(4):869–84.
25. Venske E, Dos Santos RS, Farias DDR, Rother V, da Maia LC, Pegoraro C, Costa de Oliveira A. Meta-Analysis of the *QTL*ome of Fusarium Head Blight Resistance in Bread Wheat: Refining the Current Puzzle. *Front Plant Sci*[Internet]. 2019 Jun 13 [cited 2020 Mar 27];10:727. Available from: 10.3389/fpls.2019.00727.
26. Liu S, Hall MD, Griffey CA, McKendry AL. Meta-Analysis of *QTL* associated with fusarium head blight resistance in wheat. *Crop Sci*. 2009 Nov 01;49(6):1955–68.

27. Cuthbert PA, Somers DJ, Thomas J, Cloutier S, Brulé-Babel A. Fine mapping Fhb1, a major gene controlling fusarium head blight resistance in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet.* 2006 May;112(8):1465–72.
28. Cuthbert PA, Somers DJ, Brulé-Babel A. Mapping of Fhb2 on chromosome 6BS: A gene controlling Fusarium head blight field resistance in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet.* 2007 Feb;114(3):429–37.
29. Ren J, Wang Z, Du Z, Che M, Zhang Y, Quan W, et al. Detection and validation of a novel major *QTL* for resistance to Fusarium head blight from *Triticum aestivum* in the terminal region of chromosome 7DL. *Theor Appl Genet.* 2019 Jan;132(1):241-55.
30. Bai G, Su Z, Cai J. Wheat resistance to Fusarium head blight. *Can J Plant Pathol* [Internet]. 2018 May 22 [cited 2020 Mar 27];40(3):336–46. Available from: <https://doi.org/10.1080/07060661.2018.1476411>
31. Qi LL, Pumphrey MO, Friebe B, Chen PD, Gill BS. Molecular cytogenetic characterization of alien introgressions with gene Fhb3 for resistance to Fusarium head blight disease of wheat. *Theor Appl Genet.* 2008 Nov;117(7):1155–66.
32. Cainong JC, Bockus WW, Feng Y, Chen P, Qi L, Sehgal SK, et al. Chromosome engineering, mapping, and transferring of resistance to Fusarium head blight disease from *Elymus tsukushiensis* into wheat. *Theor Appl Genet.* 2015 Jun;128(6):1019–27.
33. Guo J, Zhang X, Hou Y, Cai J, Shen X, Zhou T, et al. High-density mapping of the major FHB resistance gene Fhb7 derived from *Thinopyrum ponticum* and its pyramiding with Fhb1 by marker-assisted selection. *Theor Appl Genet.* 2015 Nov;128(11):2301–16.
34. Lagudah ES, Krattinger SG. A new player contributing to durable Fusarium resistance. *Nat Genet.* 2019 Jul;51(7):1070-71.
35. Rawat N, Pumphrey MO, Liu S, Zhang X, Tiwari VK, Ando K, et al. Wheat Fhb1 encodes a chimeric lectin with agglutinin domains and a pore-forming toxin-like domain conferring resistance to Fusarium head blight. *Nat Genet.* 2016 Dec;48(12):1576-80.

36. Li G, Zhou J, Jia H, Gao Z, Fan M, Luo Y, et al. Mutation of a histidine-rich calcium-binding-protein gene in wheat confers resistance to *Fusarium* head blight. *Nat Genet.* 2019 Jul; 51(7):1-7.
37. Prat N, Guilbert C, Prah U, Wachter E, Steiner B, Langin T, et al. *QTL* mapping of *Fusarium* head blight resistance in three related durum wheat populations. *Theor Appl Genet.* 2017 Jan;130(1):13-27.
38. Ollier M, Talle V, Brisset AL, Le Bihan Z, Duerr S, Lemmens M, et al. *QTL* mapping and successful introgression of the spring wheat-derived *QTL* *Fhb1* for *Fusarium* head blight resistance in three European triticale populations. *Theor Appl Genet.* 2020 Feb;133(2):457-77.
39. Dhokane D, Karre S, Kushalappa AC, McCartney C. Integrated metabolo-transcriptomics reveals *Fusarium* head blight candidate resistance genes in wheat *QTL-Fhb2*. *PLoS One.* 2016 May 27;11(5):1–27.
40. Schweiger W, Steiner B, Ametz C, Siegwart G, Wiesenberger G, Berthiller F, et al. Transcriptomic characterization of two major *Fusarium* resistance quantitative trait loci (*QTLs*), *Fhb1* and *Qfhs.ifa-5A*, identifies novel candidate genes. *Mol Plant Pathol.* 2013 Oct;14(8):772–85.
41. Brar GS, Brûlé-Babel AL, Ruan Y, Henriquez MA, Pozniak CJ, Kutcher HR, et al. Genetic factors affecting *Fusarium* head blight resistance improvement from introgression of exotic Sumai 3 alleles (including *Fhb1*, *Fhb2*, and *Fhb5*) in hard red spring wheat. *BMC Plant Biol.* 2019 May;19(1):1–19.
42. McCartney CA, Brûlé-Babel AL, Fedak G, Martin RA, McCallum BD, Gilbert J, et al. *Fusarium* head blight resistance *QTL* in the spring wheat cross Kenyon/86ISMN 2137. *Front Microbiol*[Internet]. 2016 Oct 13 [cited 2020 Mar 30];7:1542. Available from: 10.3389/fmicb.2016.01542.
43. Petersen S, Lyerly JH, Maloney P V., Brown-Guedira G, Cowger C, Costa JM, et al. Mapping of *Fusarium* head blight resistance quantitative trait loci in winter wheat cultivar NC-Neuse. *Crop Sci.* 2016 Jul 01;56(4):1473–83.

44. Miedaner T, Akel W, Flath K, Jacobi A, Taylor M, Longin F, et al. Molecular tracking of multiple disease resistance in a winter wheat diversity panel. *Theor Appl Genet*. 2019;133(2):419–31.
45. Biselli C, Bagnaresi P, Faccioli P, Hu X, Balcerzak M, Mattera MG, et al. Comparative transcriptome profiles of near-isogenic hexaploid wheat lines differing for effective alleles at the 2DL FHB resistance *QTL*. *Front Plant Sci*[Internet]. 2018 Jan 30[cited 2020 Mar 30];9:37. Available from: <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00037>
46. Kage U, Yogendra KN, Kushalappa AC. TaWRKY70 transcription factor in wheat *QTL*-2DL regulates downstream metabolite biosynthetic genes to resist *Fusarium graminearum* infection spread within spike. *Sci Rep* [Internet]. 2017 Feb 15[cited 2020 Apr 01];7(42):13–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/srep42596>
47. György A, Tóth B, Varga M, Mesterhazy A. Methodical considerations and resistance evaluation against *Fusarium graminearum* and *F. culmorum* head blight in wheat. part 3. Susceptibility window and resistance expression. *Microorganisms*[Internet]. 2020 Apr 25[cited 2020 Apr 30];8(5):625. Available from: <https://doi.org/10.3390/microorganisms8050627>
48. Bajgain P, Zhang X, Turner MK, Curland RD, Heim B, Dill-Macky R et al. Characterization of Genetic Resistance to *Fusarium* Head Blight and Bacterial Leaf Streak in Intermediate Wheatgrass (*Thinopyrum intermedium*). *Agronomy*[Internet]. 2019 Aug 3[cited 2020 Apr 01];9(8). 429. Available from: <https://doi.org/10.3390/agronomy9080429>
49. Anderson JA, Chao S, Liu S. Molecular breeding using a major *QTL* for *Fusarium* head blight resistance in wheat. *Crop Sci*. 2007 Dec;47(3): 112-19.
50. Burlakoti RR, Mergoum M, Kianian SF, Adhikari TB. Combining different resistance components enhances resistance to *Fusarium* head blight in spring wheat. *Euphytica*. 2010 Mar;172(2):197–205.
51. Steiner B, Michel S, Maccaferri M, Lemmens M, Tuberosa R, Buerstmayr H. Exploring and exploiting the genetic variation of *Fusarium* head blight

- resistance for genomic-assisted breeding in the elite durum wheat gene pool. *Theor Appl Genet* [Internet]. 2018 Dec 01 [cited 2020 Apr 01];132(4):969–88. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00122-018-3253-9>
52. Raman T, Muthukathan G. Fusarium head blight resistance and mycotoxin profiles of four *Triticum* species genotypes. *Phytopathol Mediterr*. 2015 May 09;54(2):241–52.
 53. Burt C, Steed A, Gosman N, Lemmens M, Bird N, Ramirez-Gonzalez R, et al. Mapping a Type 1 FHB resistance on chromosome 4AS of *Triticum macha* and deployment in combination with two Type 2 resistances. *Theor Appl Genet*. 2015 Sep;128(9):1725–38.
 54. Malihipour A, Gilbert J, Fedak G, Brûlé-Babel A, Cao W. Characterization of agronomic traits in a population of wheat derived from *Triticum timopheevii* and their association with Fusarium head blight. *Eur J Plant Pathol*. 2015 Sep 10;144(1):31–43.
 55. Fedak G, Cao W, Wolfe D, Chi D, Xue A. Molecular characterization of Fusarium resistance from *Elymus repens* introgressed into bread wheat. *Cytol Genet*. 2017 Apr 19;51(2):130–3.
 56. Zeng J, Cao W, Hucl P, Yang Y, Xue A, Chi D, et al. Molecular cytogenetic analysis of wheat- *Elymus repens* introgression lines with resistance to Fusarium head blight. *Genome*. 2013 Jan;56(1):75–82.
 57. Ceoloni C, Forte P, Kuzmanović L, Tundo S, Moschetti I, De Vita P, et al. Cytogenetic mapping of a major locus for resistance to Fusarium head blight and crown rot of wheat on *Thinopyrum elongatum* 7EL and its pyramiding with valuable genes from a *Th. ponticum* homoeologous arm onto bread wheat 7DL. *Theor Appl Genet*. 2017 Oct;130(10):2005-24.
 58. Hongwei Wang, Silong Sun, Wenyang Ge, Lanfei Zhao, Bingqian Hou, Kai Wang, Zhongfan Lyu, Liyang Chen, et al. Horizontal gene transfer of Fhb7 from fungus underlies Fusarium head blight resistance in wheat. *Science*[Internet]. 22 May 2020[cited 2020 Apr 01];6493(368):eaba5435. Available from: [10.1126/science.aba5435](https://doi.org/10.1126/science.aba5435)

59. Turner MK, De Haan LR, Jin Y, Anderson JA. Wheatgrass-wheat partial amphiploids as a novel source of stem rust and Fusarium head blight resistance. *Crop Sci.* 2013 Sep 01;53(5):1994–2005.
60. Dai Y, Duan Y, Liu H, Chi D, Cao W, Xue A, et al. Molecular cytogenetic characterization of two triticum–secale–thinopyrum trigenic hybrids exhibiting superior resistance to fusarium head blight, leaf rust, and stem rust race Ug99. *Front Plant Sci.* 2017 May 15;8 (797):1–11.
61. Dhariwal R, Fedak G, Dion Y, Pozniak C, Laroche A, Eudes F, et al. High density single nucleotide polymorphism (SNP) mapping and quantitative trait loci (*QTL*) analysis in a biparental spring triticales population localized major and minor effect fusarium head blight resistance and associated traits *QTL*. *Genes (Basel).* 2018 Jan 18;9(1):1–28.
62. Brisco EI, Brown LK, Olson EL. Fusarium head blight resistance in *Aegilops tauschii*. *Genet Resour Crop Evol.* 2017 Feb;64(8):2049–58.
63. Ogonnaya FC, Abdalla O, Mujeeb-Kazi A, Kazi AG, Xu SS, Gosman N, et al. Synthetic hexaploids: Harnessing species of the primary gene pool for wheat improvement. *Plant Breed Rev.* 2013 Feb 28;37(1):35–122.
64. Szabo-Hever A, Zhang Q, Friesen TL, Zhong S, Elias EM, Cai X, et al. Genetic diversity and resistance to fusarium head blight in synthetic hexaploid wheat derived from *aegilops tauschii* and diverse *triticum turgidum* subspecies. *Front Plant Sci.* 2018 Dec 11;871(9):1–14.
65. Fakhfakh MM, Yahyaoui A, Rezgui S, Elias EM, Daaloul A. Inheritances of fusarium head blight resistance in a cross involving local and exotic durum wheat cultivars. *Crop Sci.* 2011 Nov 11;51(6):2517–24.
66. Gao CS, Kou XJ, Li HP, Zhang JB, Saad ASI, Liao YC. Inverse effects of *Arabidopsis* NPR1 gene on fusarium seedling blight and fusarium head blight in transgenic wheat. *Plant Pathol.* 2013 Jul 16;62(2):383–92.
67. Ferrari S, Sella L, Janni M, De Lorenzo G, Favaron F, D'Ovidio R. Transgenic expression of polygalacturonase-inhibiting proteins in *Arabidopsis* and

wheat increases resistance to the flower pathogen *Fusarium graminearum*. *Plant Biol.* 2012 Mar;14(1):31-8.

68. Mandala G, Tundo S, Francesconi S, Gevi F, Zolla L, Ceoloni C, et al. Deoxynivalenol detoxification in transgenic wheat confers resistance to fusarium head blight and crown rot diseases. *Mol Plant-Microbe Interact.* 2019 Nov;32(5):583–92.

69. FAN Y hui, HOU B qian, SU P sen, WU H yan, WANG G ping, KONG L rang, et al. Application of virus-induced gene silencing for identification of FHB resistant genes. *J Integr Agric.* 2019 Oct;18(10):2183–92.

70. Жиров Е.Г. Синтез новой гексаплоидной пшеницы. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 1980. Т. 68. С. 14–16.

71. Fedak G., Cao W., Chi D., Somers D., Malihipour A., Miller S., Ouellet T., Xue A., Gilbert J., Savard M., Voldeng H. New sources of resistance to *Fusarium* head blight and their mode of action. *Proceedings of the 2011 National Fusarium Head Blight Forum / Canty S., Clark A., Anderson-Scully A., Van Sanford D. (eds.). East Lansing, MI. P. 19–22*

72. Davoyan RO, Ternovskaya TK. Use of a synthetic hexaploid *Triticum miguschovae* for transfer of leaf rust resistance to common wheat. *Euphytica.* 1996 Jan;89(1):99–102.

73. McCartney CA, Somers DJ, Fedak G, DePauw RM, Thomas J, Fox SL, et al. The evaluation of FHB resistance *QTLs* introgressed into elite Canadian spring wheat germplasm. *Mol Breed.* 2007 Feb 25;20(3):209–21.

74. Semagn K, Skinnes H, Bjørnstad Å, Marøy AG, Tarkegne Y. Quantitative trait loci controlling *Fusarium* head blight resistance and low deoxynivalenol content in hexaploid wheat population from “Arina” and NK93604. *Crop Sci.* 2007 Jan 01;47(1):294–303.

75. Hu X, Rocheleau H, McCartney C, Biselli C, Bagnaresi P, Balcerzak M, et al. Identification and mapping of expressed genes associated with the 2DL *QTL* for

fusarium head blight resistance in the wheat line Wuhan 1. BMC Genet. 2019 May 21;20(1).

76. Rodríguez-Suárez C, Ramírez MC, Martín A, Atienza SG. Applicability of chromosome-specific SSR wheat markers for the introgression of *Triticum urartu* in durum wheat breeding programmes. Plant Genet Resour Characterisation Util. 2011 Aug;9(3):439–44.

77. Calderón MDC, Ramírez MDC, Martín A, Prieto P. Development of *Hordeum chilense* 4Hch introgression lines in durum wheat: A tool for breeders and complex trait analysis. Plant Breed. 2012 Dec;131(6):733–8.

78. Senturk Akfirat F, Ertugrul F, Hasancebi S, Aydin Y, Akan K, Mert Z, et al. Chromosomal location of genomic SSR markers associated with yellow rust resistance in Turkish bread wheat (*Triticum aestivum* L.). J Genet. 2013 Aug;92(2):233–40.

79. Singh A, Pallavi JK, Gupta P, Prabhu K V. Identification of microsatellite markers linked to leaf rust adult plant resistance (APR) gene *Lr48* in wheat. Plant Breed. 2011 Nov 17;130(1):31–4.

80. Saidou M, Wang C, Alam A, Chen C, Ji W. Genetic analysis of powdery mildew resistance gene using SSR markers in common wheat originated from wild emmer (*Triticum dicoccoides* Thell). Turkish J F Crop. 2016 Jan;21(1):10–5.

81. Goutam U, Kukreja S, Yadav R, Salaria N, Thakur K, Goyal AK. Recent trends and perspectives of molecular markers against fungal diseases in wheat. Front Microbiol. 2015 Aug 25;6(AUG):1–14.

82. Thapa R, Brown-Guedira G, Ohm HW, Mateos-Hernandez M, Wise KA, Goodwin SB. Determining the order of resistance genes against *Stagonospora nodorum* blotch, *Fusarium* head blight and stem rust on wheat chromosome arm 3BS. BMC Res Notes. 2016 Feb 2;9(1):1–11.

83. Malihipour A, Gilbert J, Fedak G, Brûlé-Babel A, Cao W. Mapping the a genome for *QTL* conditioning resistance to *Fusarium* head blight in a wheat population with *Triticum Timopheevii* background. Plant Dis Nov 10. 2017;101(1):11–9.

84. Dweba CC, Figlan S, Shimelis HA, Motaung TE, Sydenham S, Mwadzingeni L, et al. Fusarium head blight of wheat: Pathogenesis and control strategies. Crop Prot. 2016 Oct;91:114–22.
85. Пасічник Т.В., Антонюк М.З. Терновська Т.К. Білковий поліморфізм компонентів схрещування при створенні пшеничних ліній з інтрогресіями від *Triticum Miguschovae* Zhir. Фактори експериментальної еволюції організмів. 2012;53(9):1689–99.

ДОДАТКИ

Додаток А

Таблиця 2.1

Використані локуси та нуклеотидна послідовність праймерів

Локус	Нуклеотидні послідовності праймерів	Tm
<i>1D</i>		
<i>Xgwm 33</i>	5' GGAGTCACACTTGTTTGTGCA 3' 5' CACTGCACACСТААСТАССТGC 3'	60
<i>Xcfd 92</i>	5' CTTGTTGATCTCCTTCCCCA 3' 5' TTCTCTCATGACGGCAACAC 3'	60
<i>Xgwm 337</i>	5'CCTCTTCCTCCCTCACTTAGC 3' 5' TGCTAACTGGCCTTTGCC 3'	55
<i>2A</i>		
<i>Xgwm304</i>	5'AGGAAACAGAAATATCGCGG 3' 5' AGGACTGTGGGGAATGAATG 3'	55
<i>Xbarc124</i>	5' TGCACCCCTTCCAAATCT 3' 5' TGCGAGTCGTGTGGTTGT 3'	52
<i>Xgwm122</i>	5'GGGTGGGAGAAAGGAGATG 3' 5' AAACCATCCTCCATCCTGG 3'	60
<i>Xgwm311</i>	5' TCACGTGGAAGACGCTCC 3' 5' CTACGTGCACCACCATTTTG 3'	60
<i>2D</i>		
<i>Xgwm539</i>	5' CTGCTCTAAGATTCATGCAACC 3' 5' GAGGCTTGTGCCCTCTGTAG 3'	60
<i>Xgwm261</i>	5' CTCCCTGTACGCCTAAGGC 3' 5' CTCGCGCTACTAGCCATTG 3'	55

<i>3D</i>		
<i>Xbarc 270</i>	5' GCG CAT TGT GAC AGG TGA AC 3' 5' GGA GGG AGT ACT TGG TTA TTA GGG T 3'	52
<i>Xbarc 323</i>	5'GCGAATCTGATGTGGCATGTTAGTT 3' 5' GGC ATA TTT CCT TCA CAG TTT T 3'	52
<i>Xgwm 183</i>	5' GTCTTCCCATCTCGCAAGAG 3' 5' CTCGACTCCCATGTGGATG 3'	55
<i>Xcfd 55</i>	5' CCAGTAGCCGGCCCTACTAT 3' 5' GCACGAGATACGGACAATCA 3'	60
<i>4D</i>		
<i>Xwmc 399</i>	CTTCAGAGATGTTTGATTACCT GGTATTGCTAACTGAATGATGT	55
<i>Xwmc 89</i>	ATGTCCACGTGCTAGGGAGGTA TTGCCTCCCAAGACGAAATAAC	61
<i>Xwmc 285</i>	TGTGGTTGTATTTGCGGTATGG TTGTGGTGCTGAGTTAGCTTGT	61
<i>5A</i>		
<i>Xbarc230</i>	5' CCC CTC CTC CTT CTC CCT CCT CCT A 3' 5' GGC TCA TGC GGG CGT GTT TGG 3'	52
<i>Xgwm179</i>	5' AAGTTGAGTTGATGCGGGAG 3' 5' CCATGACCAGCATCCACTC 3'	55
<i>5D</i>		
<i>Xbarc86</i>	5' GCG CTT GCT TTA TTA GTA GGT AT 3' 5' TCC CAC GAT AGT ATT TGA TGT T 3'	52
<i>Xbarc 8</i>	5' GCGGGAATCATGCATAGGAAAACAGAA 3' 5' GCGGGGGCGAAACATACACATAAAAAACA 3'	50

<i>Xcfd18</i>	5' CATCCAACAGCACCAAGAGA 3' 5' GCTACTACTATTTTCATTGCGACCA 3'	60
<i>Xwmc 434</i>	5' GGAGCCTGATTAGGCTGGAC 3' 5' AGCCAAACAGCCAACAGAGT 3'	61
<i>6D</i>		
<i>Xcfd 132</i>	5' CAAATGCTAATCCCCGCC 3' 5' TGTAACAAGGTCGCAGGTG 3'	60
<i>Xbarc 196</i>	5' GGTGGGTTTTATCGAATAGATTTGCT 3' 5' GCGTTTCGTCAAGATTAATGCAGGTTT 3'	50
<i>Xcfd 76</i>	5' GCAATTTACACGCGACTTA 3' 5' CGCTCGACAACATGACACTT 3'	60
<i>Xcfd 95</i>	5' AATCCTGACTTTAAAGCCTTTCC 3' 5' CATCTGTATGATATTTTGGAGGTCA 3'	60
<i>7D</i>		
<i>Xgwm428</i>	5' CGAGGCAGCGAGGATTT 3' 5' TTCTCCACTAGCCCCGC 3'	60
<i>Xbarc172</i>	5' GCGAAATGTGATGGGGTTTATCTA 3' 5' GCGATTTGATTTAACTTTAGCAGTGAG 3'	50