

УДК 631.523:575.116.4

№ держреєстрації 0108U004087

Інв. № _____

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ «КИЇВО-МОГИЛЯНСЬКА АКАДЕМІЯ»

04655 Київ, вул. Г. Сковороди, 2, тел. 425 51 88

ЗАТВЕРДЖУЮ
Віце-президент
з науково-навчальних студій
_____ В.П. Моренець

" 31 " січня 2011

ЗВІТ

ПРО НАУКОВО-ДОСЛІДНУ РОБОТУ

«Локалізація чужинних генів стійкості до грибних захворювань пшениці у
гексаплоїдній пшениці *Triticum aestivum* L., перенесених до її геному від низки
зразків *Aegilops* та *Triticum*»
(заклучений)
договір № від 200 р.

Керівник НДР
доктор біол. наук, ст.наук.співроб.

Т.К. Терновська

Київ-2010

СПИСОК АВТОРІВ

Керівник НДР

Доктор біол.наук, с.н.с.

Т.К. Терновська

Вступ; підрозділи 2.1–
2.7, висновки

В.В. Сарнацька

Д.б.н, с.н.с.

Підрозділи 1.2, 2.1, 2.7

М.З. Антонюк

К.б.н, с.н.с.

Підрозділи 1.1, 2.1, 2.2, 2.4, 2.5,
висновки

В.С. Мартиненко

К.б.н.

Підрозділи 1.2, 2.6, 2.7

Д.О. Прокопик

Аспірант

Підрозділи 2.2, 2.4.

РЕФЕРАТ

Звіт про НДР: 127 с., 36 рис., 16 табл., 164 бібл.

Об'єкт дослідження – характер успадкування та геномна локалізація генів стійкості до збудника борошнистої роси пшениці, переданих до інтрогресивних ліній пшениці від трьох видів егілопсу та пшениці Мігушової.

Мета – встановити напрямок інтрогресії чужинного генетичного матеріалу, що містить гени стійкості до грибних захворювань пшениці, в термінах гомеологічної групи хромосом та локалізації на плечі відносно центромери.

Методи дослідження – електрофоретичне розділення білків та фрагментів ДНК, полімеразна ланцюгова реакція, цитологічні, візуальні, статистичні.

Ген стійкості до збудника борошнистої роси у інтрогресивних лініях *T. aestivum* / *Ae. sharonensis* є домінантним та таким, що забезпечує повну резистентність ліній до захворювання. За характером прояву і успадкування належить до *R*-генів стійкості, расоспецифічних. Переданий у складі транслокації 3S¹/3DL в десяти лініях та транслокації 3S¹/3DS — в трьох інтрогресивних лініях. Гени стійкості, отримані інтрогресивними лініями від *Ae. speltooides*, *Ae. umbellulata* та *T. miguschovae* за характером успадкування (неповне домінування та рецесивні алелі в деяких лініях) та функціонування, які інтерпретуються за характером прояву ознаки у гібридних поколіннях, що розщеплюються, належать до класу *PR*-генів, які забезпечують горизонтальну стійкість рослин до збудника. Гени стійкості від *Ae. speltooides* до геному інтрогресивних ліній передано у складі транслокацій чужинної хромосоми на довгі плечі хромосом 1-ої та 6-ох гомеологічних груп. Десять стійких ліній з транслокаціями хромосом 3A^b, 3D^m 6D^m на хромосоми пшениці субгеномів А та D, відрізнялись одна від однієї за одним–трьома *PR*-генами, судячи з результатів розщеплення у гібридних популяцій від циклічних схрещувань.

Ключові слова: *інтрогресія, пшениця, егілопс, локалізація генів, SSR-маркери, біохімічні маркери*

ЗМІСТ

	Стор.
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ _____	8
ВСТУП _____	9
СУТЬ ЗВІТУ _____	11
1. Об'єкти та методи дослідження _____	11
1.1. Рослинний матеріал _____	11
1.2. Методика отримання гібридів F_1 _____	17
1.3. Методика створення гібридних популяцій F_2 та F_3 _____	17
1.4. Методика оцінки рослин на стійкість до борошнистої роси _____	17
1.5. Методика цитологічних досліджень _____	18
1.5.1. Вивчення мейозу _____	18
1.5.2. Вивчення мітозу _____	19
1.6. Методики проведення електрофорезу білків у поліакриламідному гелі _____	20
1.6.1. Буфери та розчини для гель-електрофорезу альфа- та бета-амілази _____	20
1.6.2. Буфери та розчини для гель-електрофорезу запасних білків гліадинів _____	21
1.6.3. Екстракція та електрофорез ферментативних білків α та β -амілаз _____	21
1.6.4. Екстракція та електрофорез запасних білків гліадинів _____	22
1.7. Методика полімеразної ланцюгової реакції _____	22
1.7.1. Розчини для обробки рослинного матеріалу _____	22
1.7.2. Розчини для екстракції ДНК із рослинних клітин _____	23
1.7.3. Виділення ДНК із рослинних тканин _____	23
1.7.4. Вимірювання концентрації нуклеїнових кислот _____	23
1.7.5 Проведення ПЛР _____	24
1.8. Методика проведення електрофореза ДНК _____	24
1.8.1. Гель-електрофорез ДНК в агарозному гелі _____	24

1.8.2. Електрофорез ДНК у 6%-му поліакриламідному гелі _____	24
1.8.3. Виявлення ДНК в поліакриламідному гелі з допомогою фарбування сріблом _____	25
1.9. Методика статистичної обробки результатів дослідження _____	25
2. Результати досліджень _____	27
2.1. Генетична основа стійкості м'якої пшениці до борошнистої роси: гени власного генофонду пшениці та інтрогресовані (аналіз стану досліджень у світі) _____	27
2.1.1. Загальні відомості про борошнисту росу пшениці.	27
2.1.2. Молекулярна структурно-функціональна характеристика генів стійкості до борошнистої роси _____	29
2.1.3. <i>Aegilops sharonensis</i> як джерело генів стійкості до листкових хвороб м'якої пшениці _____	31
2.1.4. <i>Aegilops speltoides</i> як джерело генів стійкості до листкових хвороб м'якої пшениці _____	32
2.2. Характеристика інтрогресивних ліній щодо генетичної основи їхньої стійкості до борошнистої роси _____	34
2.2.1. Оцінка інтрогресивних ліній м'якої пшениці на стійкість до борошнистої роси _____	34
2.2.2. Оцінка гібридів F ₁ на стійкість до борошнистої роси	37
2.2.3. Встановлення характеру успадкування стійкості до борошнистої роси в ліній різного походження _____	39
2.2.4. Характеристика інтрогресивних ліній, стійких до борошнистої роси, за ознаками морфології рослин та біохімічними генами-маркерами _____	42
2.3. Ідентифікація гомеологічної належності чужинного хроматину в стійких лініях — похідних Авродеса _____	47
2.3.1. Аналіз електрофоретичних спектрів ізоферментів бета-амілази _____	47
2.3.2. Аналіз електрофоретичних спектрів ізоферментів альфа-	

амілази _____	50
2.3.3. Аналіз електрофоретичних спектрів запасних білків пшениці глютенінів _____	53
2.3.4. Аналіз електрофоретичних спектрів запасних білків пшениці гліадинів _____	55
2.3.5. Характеристика ліній щодо наявності генетичного матеріалу від <i>Aegilops speltoides</i> _____	59
2.4. Характеристика інтрогресивних ліній та генотипів м'якої пшениці за електрофоретичним спектрами продуктів ампліфікації з праймерами до локусів хромосом 3-ї гомеологічної групи _____	60
2.4.1. Обґрунтування сенсу дослідження _____	60
2.4.2. Характеристика генотипів м'якої пшениці за електрофоретичним спектрами продуктів ампліфікації _____	61
2.4.3. Характеристика інтрогресивних ліній за електрофоретичними спектрами продуктів ампліфікації _____	68
2.5. Перевірка ліній з гаметоцидною хромосомою на потенційну придатність для використання у якості індуктора хромосомних перебудов у геномі пшениці _____	77
2.5.1. Обґрунтування доцільності і переваг використання гаметоцидних генів у генетиці пшениці та інших злакових для інтрогресії в геном пшениці чужинного генетичного матеріалу _____	77
2.5.2. Вивчення гібридів пшениці, які мають у родоводі хромосому 4S ¹ , за насіннєвою фертильністю _____	80
2.5.3. Результати аналізу електрофоретичного спектру бета-амілази	84
2.5.4. Встановлення кількості хромосом у паростках, для яких були встановлені генотипи за геном β -Amy-D1 _____	89
2.6. Успадкування стійкості до борошнистої роси, яка контролюється генами пшениці Мігушової _____	92
2.6.1. Характеристика інтрогресивних ліній, що їхнє походження пов'язане з пшеницею Мігушової, за стійкістю до борошнистої роси	92

2.6.2. Гібридологічний аналіз стійких ліній _____	93
2.7. Обговорення результатів _____	100
ВИСНОВКИ _____	107
СПИСОК ЦИТОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ _____	109

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

M1 — метафаза мейозу 1

МКП — материнські клітини пилку

ПЛР — полімеразна ланцюгова реакція

AFLP — amplified fragment length polymorphism, поліморфізм довжин ампліфікованих фрагментів;

EST-SSR — expressed sequence tag derived simple sequence repeats, цільові послідовності, що експресуються, отримані із мікросателітів

Lr — ген стійкості пшениці до бурої іржі

LRR — лейцин-збагачений домен продукта гена стійкості *NBS-LRR*;

QTL — quantative trait loci, - локус кількісної ознаки;

MLO — гени ячменя, що кодують стійкість до борошнистої роси

Pm — ген стійкості пшениці до борошнистої роси

PR-гени — гени стійкості певного типу, нерасоспецифічні

R-гени — гени стійкості певного типу, расоспецифічні;

RAPD (random amplified polymorphic DNA) - ;

RFLP (restriction fragment length polymorphism) – поліморфізм довжин рестрикційних фрагментів;

Res — частина позначення лінії, від “resistant”

Mig — частина позначення лінії, від “miguschovae”

Sr — ген стійкості пшениці до стеблової іржі;

SDS (sodium dodecyl sulphate) – додецилсульфат натрія;

SSR (simple sequence repeat) – прості повтори (мікросателіти);

Tris – оксиметиламінометан.

ВСТУП

М'яка пшениця (*Triticum aestivum* L.) є однією з найважливіших сільськогосподарських культур у світі [6, 22, 43]. М'яка пшениця має унікальний гексаплоїдний геном, який складається з трьох субгеномів, що робить її цікавим об'єктом для вивчення поліплоїдних геномів та дозволяє вирощувати пшеницю в досить широкому спектрі кліматичних умов [47]. Тим не менш пшеницю вражає велика кількість хвороб та шкідників, які призводять до значних втрат врожаю та погіршення якості зерна [61].

Борошниста роса, хвороба, яку викликає *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* (синонім – *Erysiphe graminis* f. sp. *tritici*) – одна з головних хвороб пшениці за поширенням та економічними втратами, до яких вона призводить [40, 66, 84]. Борошниста роса є поширеною хворобою в багатьох районах вирощування пшениці, особливо в умовах помірного вологого клімату [61, 134]. Ця хвороба може спричиняти втрати врожаю понад 30% [157]. *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* легко поширюється з вітром і вражає чутливі рослини на будь якій стадії розвитку [134].

Вирощування стійких сортів пшениці є найбільш ефективним, економічно вигідним та екологічно безпечним методом боротьби як з борошнистою росою, так і з іншими хворобами та шкідниками пшениці [66, 69, 134]. Але завдяки здатності збудників хвороб мутувати, формувати нові раси, які здатні вражати раніше стійкі сорти, відомі гени стійкості досить швидко втрачають свою ефективність [26, 135, 156]. Таким чином виникає потреба пошуку та залучення до елітних сортів нових генів стійкості до хвороб та шкідників пшениці, і, зокрема, до борошнистої роси.

Важливим джерелом генів стійкості, а також генів, що відповідають за інші корисні агрономічні ознаки (зокрема стійкість до дії несприятливих абіотичних чинників), є дикорослі родичі пшениці [12, 14].

Оскільки гени стійкості досить швидко втрачають ефективність, для забезпечення більш довготривалої стійкості застосовують так зване

пірамідування генів – накопичення кількох генів стійкості до однієї хвороби (шкідника) або і до різних хвороб в одному генотипі [134, 145, 157]. Різні гени, які обумовлюють стійкість до одного й того самого збудника, не можуть бути перенесеними до складу геному пшениці тільки під контролем оцінки реципієнтних рослин за ознакою наявності/відсутності стійкості до збудника, адже фенотипний прояв різних генів буде однаковий. Різні гени стійкості можна зібрати у одному геномі тільки за умов ідентифікації молекулярного маркера гена стійкості (як правило, ДНК-маркера). Молекулярний маркер може бути частиною цільового гена або бути зчепленим з ним на відстані не більше 0,05 сМ [26, 50, 124, 127]. Використання специфічних молекулярних маркерів, тісно зчеплених з генами стійкості, дозволяє здійснювати накопичення (пірамідування) генів стійкості на основі елітних сортів пшениці [26, 84, 131]. Маркери також застосовуються для відбору генотипів, які несуть відповідний інтрогресований ген стійкості у складі найменшої кількості чужинного генетичного матеріалу. Отже, селекція на сьогоdnішньому етапі базується на використанні маркерів, зчеплених з цільовими генами [40, 42, 66, 157].

Багато видів злаків добре вивчено щодо хромосомної локалізації генів, що кодують білки. Ці гени (біохімічні маркери) можуть використовуватися в якості маркерів певних хромосом злаків та слугувати таким чином першим кроком на шляху локалізації інтрогресивного гена у геномі реципієнтного генотипа [2]. У порівнянні з ДНК-маркерами їх застосування є набагато менш коштовним способом ідентифікації чужинних інтрогресій на рівні цілих хромосом, а також хромосомних плечей.

СУТЬ ЗВІТУ

1. ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

1.1. Рослинний матеріал

Матеріалом для дослідження слугували інтрогресивні лінії м'якої пшениці, стійкі до ураження борошнистою росою (рис. 1.1), генотипи м'якої пшениці (таблиця 1.1), геномно-заміщені форми м'якої пшениці Авродес ($2n=42$, AABBSS), Аврозис ($2n=42$, AABB S^1S^1), Авролата ($2n=42$, AABBUU), створені як амфідиплоїди від схрещування тетраплоїдного компонента AABB сорту Аврора і диплоїдного виду егілопсу *Aegilops speltoides* (SS), *Ae. sharonensis* Eig (S^1S^1), *Ae. umbellulata* (UU) Е.Г. Жировим та Т.К. Терновською [5, 162], гексаплоїдна пшениця *Triticum miguschovae* Zhir. з геномом AAGGDD, створена як амфідиплоїд гібрида *T. militinae* x *Ae. tauschii* к-34, гібриди F_1 від схрещування інтрогресивних ліній з генотипами м'якої пшениці та одна з однією (табл. 2.3, 2.4), гібриди F_2 від гібридів F_1 , наведених у табл. 2.3 та деяких інших (табл. 2.5), гібриди F_3 , отримані від індивідуальних рослин F_2 для перевірки гомо- або гетерогенності за геном стійкості до борошнистої роси.

Інтрогресивні лінії були представлені трьома групами: 1) лінії — похідні Авродеса, відібрані за даними однорічної оцінки як стійкі до борошнистої роси, вивчались для встановлення гомологічної належності чужинного хроматину (табл. 2.2); 2) лінії — похідні Авродеса, Аврозиса та Аролати, оцінювались на польову стійкість до борошнистої роси три роки поспіль, були залучені до гібридологічного аналізу через виконання низки відповідних схрещувань (табл. 1.3); 3) лінії — похідні пшениці Мігушової, які брали участь в утворення гібридного матеріалу для генетичного аналізу на стійкість до борошнистої роси (перелік наводиться у підрозділі 2.6).



Рис. 1.1. Інтрогресивна лінія ges132, стійка до борошнистої роси

Таблиця 1.1

Походження та рівень ураження борошнистою росою генотипів м'якої пшениці, що брали участь у схрещуваннях з інтрогресивними лініями

Назва сорту	Селекційний заклад	Бал стійкості
Аврора	Краснодарський НДІ сільського господарства ім. П.П. Лук'яненка	3
Безоста 1	Краснодарський НДІ сільського господарства ім. П.П. Лук'яненка	3
Кавказ	Краснодарський НДІ сільського господарства ім. П.П. Лук'яненка	3-2
Одеська 267	Селекційно-генетичний інститут, м. Одеса	4

Продовження табл. 1.1		
Тіра	Селекційно-генетичний інститут, м. Одеса	4
Селянка	Селекційно-генетичний інститут, м. Одеса	4
Ніконія	Селекційно-генетичний інститут, м. Одеса	5
Панна	Селекційно-генетичний інститут, м. Одеса	5
Лелека	Селекційно-генетичний інститут, м. Одеса	5
Крижинка	Миронівський інститут пшениці ім. В.М.Ремесла УААН, Інститут фізіології рослин і генетики НАН України	5
Подоланка	Інститут фізіології рослин і генетики НАН України, Миронівський інститут пшениці ім.В.М.Ремесла УААН	5
Вдала	Селекційно-генетичний інститут, м. Одеса	4
Ювілейна	Миронівський інститут пшениці імені В.М.Ремесла УААН	3
Альбудум 114		2
Альбатрос одеський	Селекційно-генетичний інститут, м. Одеса	4

Таблиця 1.2

Назви та шифри ліній — похідних Авродесу, стійких до борошністої роси за даними однорічної оцінки

Шифр	Назва	Шифр	Назва	Шифр	Назва	Шифр	Назва
1	f 96 766	24	f 02 867	46	f 02 914	68	f02 1471
2	f 96 628	25	f 02 869	47	f 02 915	69	f02 1478
3	f 96 696	26	f 02 872	48	f 02 921	70	f02 1479
4	f 96 767	27	f 02 877	49	f 02 922	71	f02 1481
5	f 02 102	28	f 02 879	50	f 02 923	72	f04 1010
6	f 04 12	29	f 02 883	51	f 02 924	73	f04 1011
7	f 07 410	30	f 02 884	52	f 02 926	74	f04 1054
8	f 04 52	31	f 02 885	53	f 02 927	75	f04 1070
9	f 04 72	32	f 02 891	54	f 02 950	76	f04 1079
10	f04 2570	33	f 02 892	55	f 02 951	77	f04 1085
11	f04 2659	34	f 02 893	56	f 02 952	78	f04 1092
12	f04 2574	35	f 02 894	57	f 02 962	79	f04 1105

Продовження табл. 1.2							
13	f 02 851	36	f 02 895	58	f 02 963	80	f04 1112
14	f 02 856	37	f 02 896	59	f 02 964	81	f04 1113
15	f 02 857	38	f 02 897	60	f 02 965	82	f04 1116
16	f 02 858	39	f 02 898	61	f 02 966	83	f04 1123
17	f 02 859	40	f 02 899	62	f02 1456	84	f04 1128
18	f 02 861	41	f 02 902	63	f02 1457	85	f04 1131
19	f 02 862	42	f 02 903	64	f02 1458	86	f04 1133
20	f 02 863	43	f 02 904	65	f02 1461	87	f04 1135
21	f 02 864	44	f 02 905	66	f02 1468	88	f04 1136
22	f 02 865	45	f 02 906	67	f02 1469	89	f04 1156
23	f 02 866						

Таблиця 1.3

Походження інтрогресивних ліній м'якої пшениці, стійких до борошнистої роси, які використані у дослідженні

Джерело чужинного хроматину	Номери ліній, що беруть походження від вказаного амфідиплоїду
Авродес	res2, res3, res5, res6, res7, res8, res12, res13, res16, res19, res22, res26, res28, res31, res32-1, res33, res33-1, res34, res37, res38, res39, res44, res45, res46, res51, res53, res66, res67, res70, res79, res80, res83, res87
Аврозис	res102, res106, res113, res114, res118, res121, res122, res125, res130, res132, res139, res140, res141, res142, res143, res146, res147, res148.
Авролата	res151, res156, res158, res160, res163, res164, res166, res177, res181, res182, res189, res193, res195/2, res196, res202, res206, res207, res209, res210, res211, res215, res217, res218, res221, res222, res226, res237, res242, res250, res252, res254, res258

Окрема група гібридів F_2 використовувалась при вивченні питання про можливість застосування інтрогресивних ліній з гаметоцидною хромосомою у якості індуктора хромосомних перебудов в гібридних рослинах пшениці. Для отримання гібридів F_1 у якості чоловічих компонентів схрещування було використано інтрогресивні лінії *Triticum aestivum/Aegilops sharonensis*, до складу геному яких входить (шість ліній) чи не входить (чотири лінії) гаметоцидна хромосома $4S^1$. Наявність чи відсутність $4S^1$ хромосоми було встановлено через використання молекулярно-генетичних маркерів: мікросателітних повторів з праймерами, специфічними для хромосоми 4D, та гена β -Amy-1, — з урахуванням картини асоціації хромосом у M1 мейозу материнських клітин пилку у гібридів досліджуваних ліній з сортом м'якої пшениці Аврора. Жіночими компонентами схрещування слугували гібриди F_1 , отримані від схрещування: інтрогресивних ліній *T. aestivum/Ae. speltoides* та *T. aestivum/Ae. umbellulata* з сортом Аврора (3 комбінації); інтрогресивних

ліній *T. aestivum*/*Ae. speltoides* та *T. aestivum*/*Ae. umbellulata* одна з однією у будь-якому напрямку (13 комбінацій); інтрогресивних ліній *T. aestivum*/*Ae. speltoides* та *T. aestivum*/*Ae. sharonensis* у будь-якому напрямку (6 комбінацій); інтрогресивних ліній *T. aestivum*/*Agropyrum glaucum* з сортом м'якої пшениці Одеська 267 (2 комбінації) Гібриди, отримані від схрещування вказаних гібридів F_1 з інтрогресивними лініями, що мали (група 1) чи не мала (група 2) гаметоцидну хромосому, не мали бути одноманітними через гібридну природу жіночого компонента схрещування. Тому насіння F_2 збирали та піддавали аналізу від кожної рослини F_1 окремо.

1.2. Методика отримання гібридів F_1

Колосся материнських рослин емаскулювали пінцетом, ізолювали пергаментними пакетами та залишали до дозрівання приймочок (на 3-4 дні). Запилення проводили вручну. Якщо між цвітінням материнських і батьківських рослин були значні проміжки в часі, колоски батьківських ліній із дозрілим пилком зберігали при $t^0=4^{\circ}\text{C}$.

1.3. Методика створення гібридних популяцій F_2 та F_3

Гібридні популяції F_2 створювались як суміш насіння, отриманого від самозапилення гібридних рослин F_1 під пергаментовими ізоляторами. Популяції F_3 завжди були представлені групою родин, кожна з яких включала нащадків однієї рослини F_2 .

1.4. Методика оцінки рослин на стійкість до борошнистої роси

Стійкість до борошнистої роси оцінювали за дев'ятибальною шкалою [9, 100, 103], за якою бал 9 характеризує рослини, у яких ознаки ураження хворобою відсутні, а бал 1 — 90% листової поверхні зайнято пустулами

борошнистої роси. До класу стійких рослин відносили рослини із оцінкою 9-7 балів, до класу сприйнятливих —рослини із оцінкою нижче сім балів.

1.5. Методика цитологічних досліджень

1.5.1. Вивчення мейозу. В період проходження мейозу колос розташовується між другим та третім листками стебла. Стебла з таким чином розташованим колосом зрізали у полі у період від 8-ої до 10-ї години та одразу поміщали у фіксатор складу: 6 частин етанолу : 3 частини хлороформу : 1 частина крижаної уксусної кислоти. Кожен колос поміщався в індивідуальну пробірку з обсягом фіксатору 5–7 мл. За 3-4 години колосся у фіксаторі поміщали у холодильник при $t = 4-6^{\circ}\text{C}$. За 24 години фіксатор замінювали на свіжий розчин і матеріал залишали у холодильнику для зберігання. Для вивчення мейозу колос виймали препарувальною голкою з фіксатору, виймали з нього пиляки і поміщали їх у 2% розчин ацетокарміну [10]. Мейоз вивчали на стадіях метафази 1 (M1) материнських клітин пилку (МКП) та тетрад. Конфігурацію хромосомних асоціацій в метафазі 1 у гібридів F_1 вивчали для визначення кількості чужинних хромосом або чужинних транслокацій у геномі інтрогресивної лінії, яка брала участь в утворення гібриду F_1 . Кількість унівалентів у M1 мейозу, виявлена за умов найвищої асоціації хромосом, поділена на два, вказує на кількість чужинних хромосом, що заміщають хромосоми пшениці в інтрогресивній лінії, що взяла участь в утворенні гібриду F_1 [7]. Ця інформація необхідна для правильного моделювання співвідношення між фенотипними класами у популяціях рослин, що розщеплюються (F_2 та F_3 в нашому дослідженні). Непрямим показником наявності унівалентів у M1 мейозу є тетради з мікроядрами, оскільки імовірність унівалента не відійти до жодного з полюсів і залишитися у цитоплазмі, формуючи надалі мікроядро, становить 0,75 [79]. Цим показником можна скористатися, якщо не вдалося вивчити M1 мейозу гібрида.

1.5.2. Вивчення метафази мітозу. Для визначення рівня цитологічної стабільності інтрогресивних ліній визначали кількість хромосом у 35-50 паростків для кожної лінії. Хромосоми рахували у метафазах на тимчасових чавлених препаратах первинних корінців паростків пшеничних ліній [147]. Зернівки пророщували на фільтрувальному папері в чашках Петрі протягом 1,5-2 діб (довжина первинних корінців 1-1,5 см). В тій частині роботи, що стосувалася вивчення впливу гаметоцидної хромосоми на насінневу продуктивність рослин, нумерували кожну зернину гібридної популяції окремо і пророщували тільки ту половину зернівки, яка мала зародок. Другу половину, яка мала той самий номер, залишали для вивчення запасних білків та амілаз. Чашки з пророслими зернами витримували протягом ночі при температурі 4°C. З 8-ї до 13-ої години чашки з паростками перебували при температурі 23–25°C, після чого від паростків відривали корінці, поміщаючи їх у насичений розчин α -бромнафталіну (1 мл/л) до 8-ої години ранку наступної доби. Фіксацію проводили у концентрованій оцтовій кислоті протягом 4 годин, після чого проводили корінці через суміш 96 % етанолу із концентрованою оцтовою кислотою (3:1) протягом 4 год. До гідролізу і гістохімічного забарвлення препарати зберігали у 80 % етанолі при температурі 4–6°C. Після гідролізу (скляні трубочки з корінцями витримуються 12 хв. у 0,1 н HCl при температурі 58–60°C на водяній бані) корінці занурювали у розчин Шиффа на 1,5–2 години для забарвлення за Фьольгеном. Склад реактиву Шиффа:

H ₂ O (дистильвана).....	292,5 мл
HCl (концентрована).....	7,5 мл
фуксин основний для фуксинсірчастої кислоти.....	1,5 г
метабісульфіт калію.....	3,6 г.

Фарбований корінець вміщували на чисте предметне скло, препарувальною голкою відрізали верхівку корінця, що інтенсивно забарвилася. Видаляли зі скла частину кореня без верхівки. До верхівки корінця додавали краплину 45% оцтової кислоти і накривали покривним

скельцем. Ударами руків'я препарувальної голки по покривному склу розбивали верхівку корінця, до стану, коли забарвлена барвником тканина корінця ставала ледь помітна під покривним скельцем. Накривали препарат фільтром і чавили пальцем. Аналізували препарат під мікроскопом, використовуючи 10X об'єктив для пошуку метафаз і 40X об'єктив для аналізу.

1.6. Методики проведення електрофорезу білків у поліакриламідному гелі

Для зручності роботи з гелями, їх зберігання та післяфорезової обробки одну з кожної пари скляних пластин обробляли розчином такого складу:

Оцтова кислота	1 мл
Етиловий спирт	10 мл
3 – methacryloxypropyltrimethoxysilane (bind-silan)	50 мкл

Перед використанням розчин настоювали протягом двох тижнів.

1.6.1. Буфери та розчини для гель-електрофорезу альфа- та бета-амілази [2]. Екстракційний буфер для β -амілази містить 0,5 М NaCl, 1,5% β -меркаптоетанол та барвник – бромфеноловий синій. Екстракційний буфер для α -амілази містить 30% цукрозу, 0,2% хлорид кальцію, бромфеноловий синій.

Поліакриламідний гель для β -амілази має вміс акриламідну 7,5%, на буфері 0,02М трис, 0,06М гліцин. Співвідношення акриламіду до бісакриламіду в гелі становить 1:30. Поліакриламідний гель для α -амілази має аналогічний склад, проте містить 5М сечовину, гелю містить 6,5% акриламіду.

Електродний буфер pH 8,4 містить 0,01 М трис, 0,06 М гліцин.

Розчин крохмалю для амілаз (в розрахунку на 1 л), містить 30 г гідролізованого крохмалю, 9 г ацетату натрію та 3мл оцтової кислоти.

Розчин Люголя (1 л): калій йодистий – 5 г, йод – 2,6 г, 100% трихлороцтова кислота – 50,4 мл.

1.6.2. Буфери та розчини для гель-електрофорезу запасних білків гліадинів [1]. SGB-буфер містить 1,2 г гістидину солянокислого, 1,6 мл крижаної оцтової кислоти на 50 мл водного розчину. MSS-буфер має такий склад: 30,4 г акриламіду, 1,6 г метиленбісакриламіду, 4,55 мл розчину заліза сірчаноокислого (концентрація 44мг/100мл), 245 мг аскорбівої кислоти на 100 мл буферу. Розділяючий гель містить 22 мл розчину MSS, 67,5 мл 4,44М сечовини, 6 мл оцтової кислоти, 4,5 мл води. Концентруючий гель об'ємом 25 мл містить 4,25 мл розчину SGB, 3,9 мл MSS розчину, 16,8 мл 4,44М сечовини. Десятикратний електродний буфер (300 мл) містить 10 мл мурашиної кислоти. Розчин для проявлення (в розрахунку на 1л) включає : 200 мг coumassie diamond blue R, 170 мл ацетону, 60 мл оцтової кислоти та 60 мл трихлороцтової кислоти.

1.6.3. Екстракція та електрофорез ферментативних білків α та β -амілаз [2]. Ізоферменти α -амілази визначали в екстрактах пророслого зерна із колеоптилем завдовжки 3-4 см. Зерна пророщували в чашках Петрі на змоченому поживним середовищем Хоагlanda фільтрувальному папері. Перед пророщуванням зерна стерилізували в 5% розчині перманганату калію. Пророслу зернину роздавлювали в 1 мл екстракційного буферу та проводили екстракцію протягом 16-18 годин при температурі 4 °С. Перед нанесенням на гель зразки центрифугували протягом 3 хвилин із прискоренням 8000 xg. У слоту вносили 5 мкл екстракту. Ізоферменти β -амілази визначали в екстрактах із сухого подрібненого зерна. Умови екстракції та підготовки зразків аналогічні з α -амілазою. Розділення α - та β -амілаз проводили від катоду до аноду. Параметри проведення (на дві пластини гелю): $U = 299 \text{ V}$; $I = 15 \text{ mA}$ (протягом 30 хвилин); $U = 299 \text{ V}$; $I = 30 \text{ mA}$ (до кінця проведення електрофорезу). Тривалість розділення 3-3,5 годин для β -амілаз та 4-4,5 годин для α -амілаз. Гель експонували в 3% розчині гідролізованого крохмалю протягом 40-60 хвилин, відмивали від надлишків

крохмалю та фарбували розчином Люголя. На темно-коричневому тлі пофарбованого йодом крохмалю можна було візуалізувати світлі полоси гідролізованого крохмалю, які відповідали локалізації амілаз на гелі.

1.6.4. Екстракція та електрофорез запасних білків гліадинів [1]. Електрофорез гліадинів провадили за методикою В. Бжезинського в модифікації М.З. Антонюка [1]. Роздрібнену зернину заливали 150 мкл 70% етанолу, через 1,5 години відбирали 100 мкл спиртового екстракту та випарювали етанол протягом ночі при температурі 50 °С. Сухий осад розчиняли в 50 мкл 5,5М сечовини, витримували протягом 30 хв. У слоту вносили 20 мкл екстракту. Розділяючий (нижній) та концентруючий (верхній) гелі нашаровували бутанолом, вимиваючи його після полімеризації гелю дистильованою водою. Для нижньої камери (–) використовували однократнийний електродний буфер, для верхньої камери (+) – вдвічі розведений нижній. Розділення проводили від катоду до аноду протягом 6 годин. Умови проходження фореу (розрахунок на 2 пластини гелю): $U = 299$ V; $I = 15$ mA – до входження в розділяючий гел; $U = 299$ V; $I = 30$ mA – до кінця фореу. Після закінчення фореу гелі витримували у розчині з Coomassie R blue протягом 8-16 годин та відмивали гарячою водопровідною водою. Зони активності гліадинів виявляли у вигляді синіх смуг на блакитному фоні.

Екстракцію та електрофорез запасних білків глютенінів провадили за методикою Лемлі у модифікації Антонюка [1].

1.7. Методика полімеразної ланцюгової реакції

1.7.1. Розчини для обробки рослинного матеріалу. Поживне середовище Хоагlanda складається із розчинів А, В й С та суміші солей. Розчин А містить (із розрахунку на 100 мл): 280 мг борної кислоти, 340 мг сульфату магнію десятиводного, 10 мг сульфату міді п'ятиводного, 22 мг сульфату цинку семиводного, 10 мг молібдату амонію чотирьох водного.

Розчин В являє собою 0,5% сірчану кислоту. Розчин С в 400 мл містить 5,36 г халатного заліза. Для приготування 500 мл середовища Хоагаланда десятикратного потрібні 4,7 г нітрату кальцію чотирьохводного, 2,6 г сульфату магнію семи водного, 3,3 г нітрату калію, 0,6 г монофосфату амонію, 5 мл розчину А, 0,5 мл розчину В. для приготування однократного середовища додається 0,5% від загального об'єму розчину С та 10% від об'єму десятикратного середовища.

1.7.2. Розчини для екстракції ДНК із рослинних клітин. ЦТАБ-буфер: 1,4 М хлорид натрію, 20 мМ ЕДТА, 100 мМ трис солянокислий, 2% ЦТАБ, 10 мкг/мл РНКаза, рН 8.0. Суміш для денатурації білків: хлороформ та ізоаміловий спирт об'ємних співвідношеннях 24:1. Суміш для преципітації нуклеїнових кислот: 95% етиловий спирт, 0,5 М ацетат натрію, рН 5.2.

1.7.3. Виділення ДНК із рослинних тканин. Етиольовані пагони зважували та розтирали в ступці за низької температури (для заморожування використовували рідкий азот). Гомогенат інкубували в ЦТАБ-буфері за температури 65° С протягом години; брали 2 мл буфера на 1 г тканини. Додавали рівний об'єм суміші хлороформ:ізоаміловий спирт, та м'яко перемішували 30 хвилин. Зразки центрифугували протягом 10 хвилин із прискоренням 8000x g; верхню – водну – фазу відбирали, та із нею повторювали денатурацію білків сумішшю хлороформу та ізоамілового спирту. Із відібраної водної фази осаджували нуклеїнові кислоти: додавали рівний об'єм ізопропанола, інкубували протягом 18 годин на -20 °С та центрифугували протягом 15 хвилин із прискоренням 10000x g. Осад ресуспендували в 98% етанолі та осаджували за описаних умов. ДНК розчиняли в теплому ТЕ-буфері.

1.7.4. Вимірювання концентрації нуклеїнових кислот. Концентрацію та якість виділеної ДНК досліджували спектрофотометрично, на приладі СФ-2000 в УФ діапазоні спектру за довжин хвиль 230, 260 та 280 нм, що відповідає спектрам поглинання цукрів, нуклеїнових кислот та протеїнів відповідно. Зразки розводили в 300 разів; вимірювання проводили

проти кювети із розведеним в 300 разів ТЕ-буфером. Концентрацію ДНК визначали за формулою $C = D \times 50 \times 300$, де С-концентрація, Д-поглинання на довжині хвилі 260 нм, 50 – перерахунковий коефіцієнт для нуклеїнових кислот, 300-розведення зразків.

1.7.5 Проведення ПЛР. ПР-суміші містили буфер для Taq-полімерази однократний (трис солянокислий 100 мМ, KCl 500 мМ, Нонідет Р40 0,8% (о/о), рН 8.8), 2,5 пМ кожного праймеру в суміші, 1,5 мМ MgCl₂, 2 мМ кожного із дезоксирибонуклеотидтрифосфатів, 50 нг матричної ДНК, 1 одиницю активності Taq-полімерази. Ампліфікацію проводили в такому режимі роботи термостату, що програмується: 1) початкова денатурація при 95 °С - 3 хв., 2) денатурація при 94 °С - 1 хв., 3) гібридизація при 55 (або 60) °С – 1 хв., 4) елонгація при 72 °С – 2 хв., 5) фінальна елонгація при 72 °С – 10 хв; етапи 1-3 повторювались протягом 45 циклів.

1.8.Методика проведення електрофореza ДНК

1.8.1. Гель-електрофорез ДНК в агарозному гелі. Наявність продукту ампліфікації контролювали в агарозному 2% гелі, приготованому на 1^х ТБЕ-буфері. Камеру заливали 1^х ТБЕ-буфером. Параметри електрофореzu: 200 V, силу струму поступово змінювали від 85 до 120 мА. Продукти візуалізували бромистим етідієм в ультрафіолетовому світлі ($\lambda = 320 - 340$ нм) з використанням маркера молекулярних мас.

1.8.2. Електрофорез ДНК у 6%-му поліакриламідному гелі. Для розділення продуктів ампліфікації використовували метод електрофореzu в 6%-му поліакриламідному гелі із 7 М сечовини:

30% акриламід, приготований на 1 ^х ТБЕ	8 мл;
2% метиленбісакриламід, приготований на 1 ^х ТБЕ	6 мл;
сечовина	16,8 г;
1 ^х ТБЕ	до 40 мл;
10% розчин персульфату амонію	480 мкл;

N, N, N',N' -тетраметилетилендіамін (ТЕМЕД)

20 мкл.

Буфер нанесення для фореу в поліакриламідному гелі: 99% формамід – 9,5 мл, 0,5 М EDTA, pH = 8,0 – 0,5 мл, бромфеноловий синій – 1 – 2 кристали. Розчин персульфату амонію та ТЕМЕД додавали безпосередньо перед заливанням гелю. Зразки прогрівали 3 хвилини при температурі 95°C на водяній бані, охолоджували на льодяній бані. Електрофорез проводили від катода до анода протягом 3,5 – 4 годин. Умови фореу: 400V – незмінно, 0,27 мА до входження фронту барвника в гель, після входження – 1,33 мА з розрахунку на 1 см гелю.

1.8.3. Виявлення ДНК в поліакриламідному гелі з допомогою забарвлення сріблом [15]. Після проведення розділення продуктів ампліфікації в 6%-му поліакриламідному гелі пластини гелю фарбували азотнокислим сріблом. Гель промивали під проточною дистильованою водою, видаляли залишки масла зі спейсерів за допомогою ацетону. Фіксацію гелю проводили у фіксаторі протягом 8 хвилин. Забарвлювали 0,012 М розчином азотнокислого срібла (додаючи 1,2 мл формаліну у розрахунку на 500 мл розчину барвника безпосередньо перед занурюванням гелю у барвник) протягом 10 – 11 хвилин. Промивали дистильованою водою. Обробляли гель проявником, додаючи 2 мл формаліну у розрахунку на 1 літр проявника безпосередньо перед початком проявлення. Знову фіксували у фіксаторі протягом 2 хвилин. Гель промивали у дистильованій воді.

1.9. Методика статистичної обробки результатів дослідження

Перевірка значущості різниці між емпіричним розподілами рослин за фенотипними класами та теоретичним, розрахованим у відповідності до нульової гіпотези, яка висувалася, виконувалась з застосуванням методу χ^2 [8], точного критерію Фішера [163]. Для вивчення мінливості за ознакою насінневої фертильності рослин, геном яких містить чи не містить гаметоцидну хромосому 4S¹, використано непараметричний дисперсійний

аналіз Крускала-Уолліса та критерій Данна для внутрішньокomплексного порівняння середніх рангів, адже групи були різновеликими [3]. Для визначення зчеплення між генами використовували метод LOD scores [164]. Для переводу одиниць кросинговеру до одиниць карти хромосоми використовували функцію Козамбі [83]. Порівняння розподілів частот чисел хромосом у паростків різних інтрогресивних ліній виконували за допомогою критерію Колмогорова-Смірнова, непараметричного [11].

2. Результати досліджень

2.1. Генетична основа стійкості м'якої пшениці до борошнистої роси: гени власного генофонду пшениці та інтрогресовані (аналіз стану досліджень у світі)

2.1.1. Загальні відомості про борошністу росу пшениці. Одним з найбільш помітних та шкодочинних захворювань пшениці, розповсюджених у країнах з помірним кліматом та опадами, які починаються у вегетаційному сезоні рано, є борошниста роса [16, 27, 105]. Захворювання викликається грибом *Blumeria graminis* (DC) E.O. Speer f. sp. *tritici* Em. Marchal (syn. *Erysiphe graminis* DC f. sp. *tritici* Marchal), облигатним паразитом [16]. Спори потрапляють на поверхню листка, проростають у середину клітин, утворюються пустули, площа яких прогресивно зростає від початку інвазії. Гриб отримує від живих клітин поживні речовини, виснажуючи рослину та зменшуючи ефективність фотосинтетичних процесів. Уражається переважно верхня поверхня листків [28, 121, 150]. За кілька днів після ініціації ураження пустули вже продукують конідії (спори), які легко розповсюджуються водою та вітром на сусідні рослини [150]. Ураження починається з нижніх листків за температури 10–22°C, так що це є першим листовим захворюванням пшениці у сезоні. Пустули з'являються як на листових пластинках, так і на листових піхвах. Хвороба прогресує дуже швидко. Підвищення температури понад 25°C стримує розвиток хвороби [28]. При сильному ураженні втрата урожаю оцінюється від 5 до 34% [66, 87, 30]. Раннє ураження рослин стимулює надлишкове кушіння рослин. Зайві стебла, які не утворюють колоса, зменшують потенціал продуктивних колосів через редукцію кількості зерен та їхньої ваги [18]. Ураження борошнистою росою викликає зменшення загального вмісту білка в зерні, хоча на вміст клейковини та хлібопекарні якості борошна не впливають [74].

Агрономічні заходи боротьби з борошнистою росою, такі як обробка посівів фунгіцидами, зменшення зрошення та вмісту азоту у ґрунті, не можна вважати прийнятними. Обробка дорого коштує і є заходом, який засуджується суспільством через забруднення довкілля. Зменшення вмісту азоту та зрошення самі по собі призводять до зменшення врожайності культур [16].

Найбільш ефективним заходом для боротьби з борошнистою росою пшениці завжди вважалося вирощування сортів з генетичною стійкістю до цього захворювання [16]. Інтенсивними дослідженнями у цьому напрямку локалізовано понад 39 локусів, розташованих на 16 хромосомах, що запобігають розвитку спор борошнистої роси на листках пшениці, забезпечуючи тим самим стійкість рослини до збудника. Загальна кількість алелів цих генів перевищує 55 [57, 61, 66, 70, 89, 91, 96, 114, 119, 126, 151, 161]. Більшість з них є компонентами системи ген-на-ген [142], представниками домінантних генів *R*, які мають спеціальну назву *Pm* та обумовлюють вертикальну стійкість рослин. Стійкість, що цими генами забезпечується, закономірно та швидко долається завдяки природної еволюції збудника, в якого на тлі певного селективного тиску відбираються мутанти зі зміненим геном вірулентності, який вже не упізнається геном стійкості, і рослина стає чутливою до ураження [27, 108]. Особливо помітним цей процес є для генів стійкості, широко розповсюджених у світі, які входять до складу генома більшості сортів, стійких до борошнистої роси [66]. Саме з цим пов'язана необхідність постійного поновлення запасу генів стійкості у генетичному пулі м'якої пшениці.

Розвиток захворювання залежить від генотипу сорту не тільки за генами вертикальної стійкості, а також за генами, які забезпечують нерасоспецифічну, часткову або горизонтальну стійкість рослини до захворювання [27]. Ця стійкість є стійкістю переважно дорослої рослини, адже молоді рослини уражуються борошнистою росою і цим запускають у організмі каскад експресії генів, результатом реалізації чого є послаблення

ознак ураження: зростає латентний період, тобто сповільнюється процес спороутворення патогена, зменшуються розмір пустул, швидкість розповсюдження хвороби по рослині [123]. Горизонтальна стійкість, як правило, забезпечується кількома генами і називається кількісною на відміну від якісної, яка контролюється генами *Pm* [27, 51].

2.1.2. Молекулярна структурно-функціональна характеристика генів стійкості до борошнистої роси. Переважна більшість генів *Pm* зареєстровані як такі, що домінують над своїми алелями, які спричиняють розвиток чутливого фенотипу рослин. Рецесивну природу алелів, що забезпечують стійкість, показано для генів *Pm5*, *9*, *26*, *PmLK906* та *Pm2026* [16, 60, 65, 104, 119, 152]. Для *R* генів других рослин встановлено, що вони кодують білки, які беруть участь у впізнанні певних молекулярних компонентів клітини збудника, еліситорів. Для *Pm* генів такої інформації поки ще немає. Кілька з відомих *Pm* генів представлені декількома алелями стійкості. Так, ген *Pm5* має принаймні три алеля, ген *Pm3* – також [102, 148]. Поліморфними є гени *Pm1*, *Pm4*, *Pm8* [66, 148]

На сьогодні встановлено нуклеотидну послідовність принаймні 60-ти *R*-генів рослин, що дало змогу не тільки встановити амінокислотні послідовності білків, які цими генами кодуються, а й класифікувати ці білки у кілька груп у залежності від наявності в їхній структурі тих чи інших загальних доменів. Серед *Pm* генів клоновано тільки один, *Pm3b* [153]. Досі залишається нез'ясованим, які білки кодуються домінантними та рецесивними *Pm*-генами та як ці білки працюють, забезпечуючи стійкість до збудника [105]. Крім *R*-генів у пшениці було ізольовано також інші гени стійкості до борошнистої роси. Більшість з сиквенованих *R* генів рослин кодують сайт зв'язування з нуклеотидами (NBS) та домен, збагачений на лейцин-кодуючі повтори (LRR) [64, 94, 110]. NBS-LRR гени є найбільшим класом серед *R* генів і експресуються вони у всіх вищих рослинах [29, 95]. Інший, більш маленький, клас *R* генів кодує білки рецепторного типу з позаклітинним доменом LRR [75] і рецептор-подібні кінази [62, 63].

Важають, що обидва класи білків з внутрішньоклітинним чи позаклітинним доменом LRR впізнають вірулентні білки патогену через пряму чи опосередковану взаємодію з ними [30]. Клоновані та секвеновані *R* гени пшениці *Lr10* та *Pm3b* кодують саме такі білки [41, 153].

Домінантний *R* ген пшениці *Pm3* розташований у хромосомі 1A [96]. Досі було ідентифіковано сім алелів у різних сортів та зразків пшениці, кожен з яких забезпечує расоспецифічну стійкість м'якої пшениці до збудника [67, 133]. Алель цього гена *Pm3CS* відповідає за чутливість пшениці до борошнистої роси.

Алель *Pm3b* було виділено через позиційне клонування. Результати секвенса показали, що він кодує білок класу CC-NBS-LRR [153]. Пізніше було показано, що всі сім алелів, що контролюють стійкість, майже ідентичні за нуклеотидною послідовністю [133, 154]. Всі вони мають два екзони та один інтрон. Інтрони всіх алелів повністю ідентичні. Продукт алелів *Pm3c*, *3d*, *3e* та *3g* містить 1412 амінокислотних залишки, алелю *Pm3f* — 1413, алелів *Pm3a* та *3b* — 1415. Всі ці білки мають по 28 повторностей LRR із мотивів LXXLXLXX [154]. За думкою Yahiaoui et al. [154] всі ці алелі є похідними алеля *Pm3CS*, який є найбільш розповсюдженим серед зразків м'якої пшениці. У залежності від амінокислотної послідовності білків алелі розділяються на дві групи. Перша складється з чотирьох алелів які відрізняються від алеля *Pm3CS* вставкою невеликих блоків, походження яких, очевидно, пов'язано з генною конверсією. Друга група з трьох алелів відрізняється від того самого алеля тільки кількома (2–5) мутаціями у регіоні, що кодує LRR. Ці дані свідчать, що, по-перше, всі алелі, що забезпечують стійкість, є похідними алеля чутливості пшениці до борошнистої роси. По-друге, конвертація алелю чутливості до алеля резистентності відбувається через зміну невеликої кількості амінокислот у регіоні LRR.

Інша група генів пшениці, що контролюють її стійкість до борошнистої роси називається *T. aestivum MLO*-подібні (*TaMLO*). Уперше гени *MLO* були відкриті у ячміння (*Hordeum vulgare*), в якого вони широко розповсюджені і

домінують серед генів, що забезпечують стійкість виду до борошнистої роси. Гени *MLO* були клоновані через позиційне клонування, та їхня послідовність є характерною і не нагадує інші *R* [20]. Білки, що ними кодуються, локалізовані у цитоплазматичній мембрані і мають сім трансмембранних доменів [31]. Гомологічні гени було знайдено у арабідопсиса (*Arabidopsis thaliana*), рису (*Oryza sativa*), льону (*Linum usitatissimum*) [31, 32]. Білки *MLO* взаємодіють з кальмодуліном [17, 80]. Припускають, що вони забезпечують захист проти збудника на периферії клітини [111]. На ячмені показано участь актинового цитоскелета клітини у забезпеченні расоспецифічної захисної реакції проти збудника борошнистої роси. Нехазяйська (неспецифічна) стійкість може бути як актин-залежною, так і актин-незалежною і в обох випадках пов'язана з мембранним білком [98, 109]. Про *MLO*-гени пшениці уперше було повідомлено у 2002 році у зв'язку з її стійкістю до борошнистої роси [36]. Було ізольовано кДНК гену *TaMLO* пшениці і виявлено її високу подібність до кДНК відповідного гена ячменя. Білок *TaMLO* є мембранним з молекулярною масою 60 кД [158]. Гени *TaM LO* локалізовані на довгих плечах всіх трьох хромосом 2-ої гомеологічної групи пшениці методом ПДРФ-аналізу [66]. Структуру білка *TaM LO* встановлено. Він має сигнал ядерної локалізації (K-K-K-VR), дев'ять мотивів казеїнової кінази П, сім мотивів кінази С (S/T-X-R/K), що у цілому дуже нагадувало протеїн *MLO* ячменю [158]. Вважають, що функції обох білків ідентичні [37].

2.1.3. *Aegilops sharonensis* як джерело генів стійкості до листових хвороб м'якої пшениці. *Aegilops sharonensis* Eig (егілопс Шарона), дикорослий, споріднений до м'якої пшениці вид, ендемік Ізраїлю і Лівану [141] з геномом S^1S^1 [44]. Встановлено, що геном виду збагачений на гени стійкості до багатьох грибних захворювань, що вражають м'яку пшеницю, в тому числі таких розповсюджених як листові іржа (викликається *Puccinia triticina* Eriks.), стеблова іржа (*P. graminis* Pers.: Pers f. sp. *tritici* Eriks. & E.Henn) [13, 47, 107, 108], борошниста роса [47, 107, 108],

сажка (*Tilletia indica* Mitra) [107], tan spot (*Pyrenophora tritici-repentis* [Died.] Drechs.), spot blotch (*Cochliobolus sativus* [Ito & Kurib.] Drechs. ex Dastur).

У масштабному дослідженні Олівера із співав. [107] було вивчено 107 окремих зразків егілопса Шарона з різних регіонів Ізраїлю на стійкість до певних ізолятів борошнистої роси. Встановлено, що різні зразки егілопсу мають стійкість до одних ізолятів збудника, але вражаються іншими. До гібридологічного аналізу було залучено три зразки, стійкі до однієї і тієї самої раси. Доведено, що в межах кожного зразка стійкість рослини контролюється одним геном. Тест на алелізм, виконаний для двох зразків із трьох, показав, що в різних зразках стійкість контролюється різними генами [108].

2.1.4. *Aegilops speltoides* як джерело генів стійкості до листових хвороб м'якої пшениці. *Aegilops speltoides* є джерелом агрономічно цінних ознак, зокрема від цього виду до геному пшениці перенесено гени стійкості до таких важливих хвороб як листові іржі, стеблові іржі та борошниста роса [14, 45, 116, 122]. П'ять генів стійкості Lr було перенесено від виду *Aegilops speltoides* до геному м'якої пшениці. Ген *Lr28* було перенесено при спробі перенести ген стійкості до жовтої іржі (*Yr8*), а вид *Ae. speltoides* тоді використовувався для індукції гомеологічної рекомбінації. Сегмент з геном *Lr28* походить з короткого плеча хромосоми 7S *Ae. speltoides*, і був перенесений на довге плече хромосоми 4A пшениці (T4AS.4AL-7S#2S транслокація) [146]. Цей ген не зчеплений зі шкідливими ознаками і ефективний в багатьох регіонах – Австралії, Південній Азії, Європі та Індії [26]. Ген *Lr35* розміщений на одному транслокованому сегменті з геном стійкості до стеблової іржі *Sr39* на відстані 3сМ. Обидва гени знаходяться на 2В хромосомі пшениці [50]. Ген *Lr47* перенесений від *Ae. speltoides* до NILs (near-isogenic lines) сорту м'якої пшениці Thatcher, що вирощується в Італії. *Lr47* входить до складу транслокації T7AS-7S#1S-7AS.7AL [106]. Останній з перенесених на сьогодні від *Ae. speltoides* генів стійкості до листової іржі, *Lr51*, розміщений на сегменті 1S хромосоми

Ae. speltoides, що транслокований на довге плече 1В хромосоми пшениці. Цей ген забезпечує стійкість до рас *Puccinia triticina*, що наразі переважають в США [55].

Від *Ae. speltoides* було також перенесено два гени стійкості до стеблової іржі (*Puccinia graminis* f. sp. *tritici*) – *Sr32* (McIntosh, 1988 – цит. за [122]), *Sr39* (Kerber and Dyck, 1990 – цит. За [122]). *Sr32* локалізований на 2S#1 хромосомі, *Sr39* – на 2S#2 [35].

Від виду *Aegilops speltoides* до геному м'якої пшениці було перенесено два гена стійкості до борошнистої роси (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*) – *Pm12* (Miller et al., 1987 – цит. За [122]) та *Pm32* [61]. Ген стійкості *Pm12* був вперше інтрогресований до сорту гексаплоїдної пшениці Wembley у Великобританії як транслокація в шостій групі хромосом. Спочатку вважали, що цей ген стійкості перенесений на 6А хромосому пшениці Але пізніше було показано, що транслокація включає повністю довге плече і більшу частину короткого плеча 6S хромосоми (Т6BS-6SS.6SL) [40, 131]. Ген *Pm12* високо ефективний проти борошнистої роси у Китаї, Сполучених Штатах і Європі. Але через велику кількість чужинного хроматину, лінії з *Pm12* характеризуються зменшенням врожайності і не мали комерційного використання [130]. *Pm32* перенесений до геному м'якої пшениці у вигляді транслокації Т1BL-1SS; показано, що він є домінантним геном [61].

2.2. Характеристика інтрогресивних ліній щодо генетичної основи їхньої стійкості до борошнистої роси

2.2.1. Оцінка інтрогресивних ліній м'якої пшениці на стійкість до борошнистої роси. Інтрогресивні лінії, задіяні у дослідженні, створені на генетичній основі сорту озимої м'якої пшениці Аврора, тетраплоїдний компонент геному якого, AABB, увійшов до складу всіх трьох геномно-заміщених форм (амфідиплоїдів): Авродес, Аврозис, Авролата. Ураження цього сорту борошнистою росою у польових умовах оцінюється 3–4 балами. Отже, стійкість інтрогресивних ліній до збудника може забезпечуватися тільки генами чужинного походження.

Лінії, наведені у табл. 1.2, пішли від схрещування Авродеса і Аврори і виявилися стійкими до ураження борошнистою росою за однорічною оцінкою з балом стійкості 8–7. За звітний період їх вивчали на наявність та гомеологічну належність чужинних включень за допомогою біохімічних генів-маркерів і до схрещувань не залучали (підрозділ звіту 2.3).

Лінії, наведені у табл. 1.3, було виділено серед наявної різноманітності інтрогресивних ліній як такі, що виявляють стійкість до ураження польовою популяцією рас збудника борошнистої роси при вирощуванні у м. Києві та м. Одесі у 2001 році. Судячи з результатів їхньої оцінки за останні три роки (табл. 2.1), стійкість до збудника має різну генетичну основу в ліній, які відрізняються одна від однієї за походженням інтрогресивних генів. Так, із 17 стійких ліній, що пішли від Аврозису, цілком стійкого до борошнистої роси, одна (res113) не підтвердили свою стійкість за два роки з трьох, а ще чотири (res102, res114, res141, res143) було оцінено більш низьким балом у порівнянні з первинною оцінкою. Решта 12 ліній демонструють повну резистентність до збудника протягом всього часу спостережень. Серед таких опинились і 3 лінії з гаметоцидою хромосомою 4S¹, res 118, res 139, res140, які вивчалися нами на можливість використання у якості індукторів хромосомних перебудов у пшеничних рослинах.

Наявність стійких ліній серед похідних Авролати була неочікуваною, оскільки ураження збудником Авролати оцінюється на рівні 5-6 балів, вражається також сам *Ae. umbellulata*. Тем не менш, серед 22 ліній, первинно оцінених як стійкі, частина виявилась константною за проявом стійкості на рівні 9–8 балів (res151, res189, res193, res211, res250) або 7 балів (res177, res181, res196, res254, res258). Інші характеризувались падінням балу стійкості або до 7, все ще вважаючись стійкими (res182, res207, res226, res237) або до 5, тобто уражалися борошнистою росою (res164, res166, res195-2, res202, res206, res217, res221, res222).

Авродес характеризується повною резистентністю до борошнистої роси. Серед 28 стійких ліній, які походять від Авродеса та були відібрані для дослідження, константну стійкість на рівні 8–9 балів виявили п'ять ліній (res2, res26, res37, res45, res46), на рівні 7 балів — сім ліній (res8, res16, res22, res28, res31, res44, res46). Шість ліній виявились несталими за рівнем стійкості, який зменшився до 7 балів (res3, res32-1, res38, res51, res80, res83), ще 10 ліній (res5, res6, res7, res12, res34, res39, res53, res67, res70, res79), оцінених спочатку як стійкі, отримали надалі бали 6–5.

Для встановлення генетичної основи стійкості, яка забезпечується чужинними генами, що потрапили до геному ліній м'якої пшениці, потрібно було отримати гібриди F_1 від схрещування фенотипів, контрастних за ознакою, що розглядається, та однакових за цією ознакою. Результати оцінки таких гібридів дають змогу вказати на природу гена стійкості (домінантний чи рецесивний) і в окремих випадках зробити висновок щодо ідентичності генетичної основи стійкості при схрещуванні ліній з однаковим фенотипом.

Схрещування стійких ліній з генотипами м'якої пшениці було виконано як з метою отримання популяцій, що розщеплюються, для генетичного аналізу (схрещування з генотипом Аврора), так і з метою перевірки комбінаційної здатності інтрогресивних ліній при схрещуванні з сучасними сортами м'якої пшениці селекції Селекційно-генетичного інституту (м. Одеса).

Таблиця 2.1

Оцінка стійкості інтрогресивних ліній м'якої пшениці до ураження польовою популяцією рас збудника борошнистої роси у балах, м. Київ

Джерело інтрогресії у лініях ges та роки оцінки											
Авродес				Аврозис				Авролата			
лінія	2008	2009	2010	лінія	2008	2009	2010	лінія	2008	2009	2010
2	8	8	8	102	9	9	7	151	9	9	9
3	7	8	7	106	9	8-7	9	164	9	7	5
5	5	7	5	113	7	7	5	166	9	7	5
6	3	7	5	114	8	7-6	7	177	7	7	7
7	7	7-6	5	118	9	9	9	181	7	7	7
8	7	7	7	121	9	9	9	182	9	7	7
12	8-7	7	5	122	9	9	9	189	9	7	8
13	5	5	5	125	5	5	5	193	7	8	8
16	9	8	7	130	8	8	8	195-2	8-7	7	5
19	8	7	7	132	9	9	9	196	7	7	7
22	9	7	7	139	9	9	9	202	9	7-6	5
26	8	8	8	140	9	9	9	206	9	7	5
28	7	8-7	7	141	9	7	7	207	9	8	7
31	7	7	7	142	7	7	7	211	9	9	9
32-1	9	7	7	143	9	7	7	217	9	7	5
33-1	5	7	5	146	9	9	9	221	8	7	5
34	8-7	8	5	147	9	9	8	222	8	8-7	5
37	8	8-7	8	148	9	9	9	226	9-8	8	7
38	9	8	7					237	9	8	7
39	8-7	8	5					250	8-7	8	8
44	7	8-7	7					254	7	7	7
45	8	9-8	8					258	7	7	7
46	7	8	8								

Продовження табл. 2.1

51	8	8-7	7
53	8	8-7	5
66	7	8-7	7
67	9	8-7	6
70	7	8-7	5
79	8	7	5
80	9	7	7
83	8	8	7
87	7	8	8

2.2.2. Оцінка гібридів F_1 на стійкість до борошнистої роси. У таблиці 2.2 наведено результати оцінки на стійкість до борошнистої роси гібридів F_1 від 65 комбінацій схрещувань з залученням інтрогресивних ліній різного походження.

Таблиця 2.2

Оцінка гібридів F_1 , отриманих за участю інтрогресивних ліній, стійких та нестійких до борошнистої роси

Комбінація схрещування	Рік оцінки F_1	Оцінка компонентів схрещування		Оцінка F_1
res2 x res82	2008	8	9	9
res2 x res89	2008	8		9
res2 x res86	2008	8	9	8
res3 x res292	2008	7		6
res3 x res294	2008	7	7	7
res3 x res299	2008	7		7
res9 x res82	2008	9	9	9
res9 x res89	2008	9		9
res7 x res82	2008	7	9	9

res7 x res89	2008	7		9
res7 x res86	2008	7	9	9
res8 x res82	2008	7	9	9
res8 x res89	2008	7		9
res8 x res133	2008			
res12 x res82	2008	8-7	9	9
res12 x res89	2008	8-7		9
res12 x res133	2008	8-7		9
res16 x res129	2008	9	9	6
res16 x res141	2008	9	8	6
res16 x res79	2008	9	8	6
res16 x res242	2008	9		9-7
res16 x res243	2008	9		7
res26 x res141	2007	8	8	7
res26 x res193	2008	8	7	7
res26 x res79	2007	8	8	8
res26 x res28	2007	8	7	8
res49 x res89	2008	8		9
res49 x res133	2008	8		9
res46 x res141	2007	8	8	8
res46 x res196	2007	8	4	8
res46 x res193	2007	8	7	7
res69 x res82	2008	7	9	9-7
res69 x res118	2008	7	9	9
res69 x res137	2008	7		9-7
res66 x res79	2007	7	8	6
res66 x res243	2008	7		7
res79 x res118	2008	8	9	8
res79 x res137	2008	8		9
res87 x res141	2007	7	8	7
res87 x res196	2008	7	?4	9-8
res87 x res79	2007	7	8	7
res82 x res69	2008	9		9
res82 x res79	2008	9	8	9
res82 x res196	2008	9	?4	9
res82 x res176	2008	9		9
res89 x res69	2008			9

res89 x res79	2008			9
res89 x res176	2008			9
res118 x res79	2008	9	8	9
res118 x res196	2008	9	74	9
res118 x res176	2008	9		9
res138 x res34	2008		8-7	9
res138 x res49	2008		8	9
res139 x res33	2008	9		9
res139 x res69	2008	9		9
res139 x res196	2008	9	74	9
res147 x res33	2008	9		9
res147 x res34	2008	9	8-7	9
res191 x res118	2008	9	9	9
res198 x res88	2008			7
res198 x res139	2008		8	7
res169 x res139	2008	4	8	9
res192 x res118	2008	7	9	9
res193 x res8	2008	7	7	9
res193 x res141	2008	7	8	8

2.2.3. Встановлення характеру успадкування стійкості до борошнистої роси в ліній різного походження. Судячи з даних, наведених у табл. 2.3, у всіх комбінаціях схрещування, крім res7 x Аврора, домінувала стійкість до борошнистої роси. Серед рослин F_1 згаданої комбінації спостерігалось розщеплення на стійкі та нестійкі рослини. Спираючись на результати цитологічного контролю кількості хромосом у паростків пшениці, найбільш вірним є припущення про втрату хромосоми з геном стійкості при формування гамет однією з рослин інтрогресивної лінії.

Таблиця 2.3

Оцінка гібридів F_1 , отриманих від схрещування інтрогресивних ліній, стійких до борошнистої роси, з генотипом Аврора

Комбінація схрещування	Рік оцінки F_1	Оцінка компонентів схрещування		Оцінка F_1
res4 x Аврора	2008	6	3	6
res7 x Аврора	2008	8	3	9-4
res8 x Аврора	2008	7	3	9
res12 x Аврора	2008	8-7	3	9
res33 x Аврора	2008	7	3	7
res34 x Аврора	2008	8-7	3	8-9
res44 x Аврора	2007	7	3	8
res67x Аврора	2008	9	3	6
res82 x Аврора	2008	9	3	9

Розщеплення на два альтернативних класи за ознакою стійкості серед рослин F_2 чітко свідчить про дві обставини (табл. 2.4, 2.5). По-перше, гени, що контролюють стійкість пшениці до борошнистої роси, в різних інтрогресивних лініях є різними. Порівнюючи дані в табл. 2.3–2.5, можна стверджувати, що ген стійкості, який походить від егілопсу Шарона є повністю домінантним як у сполученні з алелями генотипів м'якої пшениці, так і при взаємодії з генами стійкості інших егілопсів. В останньому випадку йдеться про домінантний епістаз.

Таблиця 2.4

Розщеплення у F₂ за ознакою стійкість до борошнистої роси при схрещуванні
стійких інтрогресивних ліній різного походження

Комбінація схрещування	Рік оцінки F ₂	Оцінка компонентів схрещування		Оцінка F ₁	Кількість рослин з балами			
					9-8	7	6-9	3-2
(res3 x res292)F2	2009	7		6	4	3	6	
(res3 x res299)F2	2009	7		7			9	6
[res8 x res133]F2	2009				2	3	2	1
[res16 x res79]F2	2009	9	8	6	9	18	14	6
[res16 x res79]F2	2009	9	8	6	13	4	1	
[res16 x res242]F2	2009	9		9-7	16	3	2	1
[res16 x res243]F2	2009	9		7	8	9	9	9
[res26 x res193]F2	2009	8	7	7	37	6	2	9
[res66 x res243]F2	2009	7		7	98	1		
[res87 x res196]F2	2009	7	4	9-8	33	9	3	9
[res69 x res118]F2	2009	7	9	9	8	9	9	9
[res89 x res79]F2	2009			9	11	9	9	9
[res7 x Аврора]F2	2009	7	3	9-4	13	22	19	9
[res8 x Аврора]F2	2009	7	3	9	7	18	16	9
[res34 x Аврора]F2	2009			8-9	19	8	12	3
[res33 x Аврора]F2	2009			7	6	8	18	9

Таблиця 2.5

Розщеплення у F₂ за ознакою стійкість до борошнистої роси при схрещуванні
стійких гібридів F₂ від схрещування інтрогресивних ліній різного
походження з генотипами м'якої пшениці

Комбінація схрещування	Рік оцінки F ₂	Оцінка компонентів схрещування		Кількість рослин з балами			
				9-8	7	6-9	3-2
[(res26 x res141)F2 x Одеська 267]F ₂	2010	9	4	1	9	42	4

Продовження табл. 2.5							
[(res26 x res141)F2 x Одеська 267]F ₂	2010			9	13	42	11
[(res26 x res141)F2 x Одеська 267]F ₂	2010	9	4	9	3	14	8
[(res26 x res141)F2 x Одеська 267]F ₂	2010	9	4	9	3	44	8
[(res26 x res141)F2 x res119-4S ¹]F ₂	2010	9	9	3	3	2	3
[(res26 x res141)F2 x Tіpa]F ₂	2010	9	4	9	3	11	9
[(res26 x res141)F2 x res148]F ₂	2010	9	9	19	7	9	2
[(res26 x res141)F2 x Одеська 267]F ₂	2010	9	4	9	13	42	11
[(res26 x res141)F2 x res16-9-4S ¹]F ₂	2010	9	9	4	8	11	9
[(res26 x res28) F2x Селянка]F ₂	2010	8	4	1	12	46	39
[(res26 x res28)F2 x res139-4S ¹]F ₂	2010	8	9	9	19	8	3
[(res66 x res79)F2 x Tіpa]F ₂	2010	9	4	9	19	19	2
[(res66 x res79)F2 x Одеська 267]F ₂	2010	9	4	9	6	6	8
[(res46 x res193)F2 x Ніконія]F ₂	2010	9?	4	1	9	33	19
[(res46 x res193)F2 x Tіpa]F ₂	2010	9?	4	2	12	38	43
[(res87 x res141)F2 x res139-4S]F ₂	2010	9	9	3	16	12	7
[(res87 x res141)F2 x Tіpa]F ₂	2010	9	4	9	7	24	19
[(res87 x res79)F2 x res16-9-4S]F ₂	2010	7	9	2	14	14	3

Характер розщеплення у комбінаціях, отриманих за участю інтрогресивних ліній різного походження щодо джерела гена стійкості дає змогу припустити, що гени *Ae. speltoides* та *Ae. umbellulata* відносяться скоріше за все до класу *PR*-генів, оскільки розщеплення носить складний, кількісний характер і наводить на думку про участь в розщепленні кількох генів з адитивним та епістатичним ефектом.

2.2.4. Характеристика інтрогресивних ліній, стійких до борошнистої роси, за ознаками морфологій рослин та біохімічними генами-маркерами. При ідентифікації чужинних хромосом в геномі пшениці з використанням біохімічних маркерів потрібно аналізувати

досліджувані лінії, сорт Аврора, дикорослий вид-донор третього субгенома геномно-заміщеного амфідиплоїда і сам амфідиплоїд [150]. При роботі з пшенично-пирійними лініями використати описаний підхід було неможливо, оскільки не існує вихідного амфідиплоїду для порівняння електрофоретичних спектрів його білків з відповідними спектрами сорту Аврора і ми не маємо вихідного виду пирію. Однак в процесі вивчення чужинно-заміщених ліній з хромосомами різних видів егілопсу нами було встановлено зв'язок між певними ознаками морфології рослини пшениці і біохімічними маркерами. Це дає змогу розмістити гени, що відповідають за розвиток обох типів ознак, на одній хромосомі.

У пшенично-егілопсних заміщених ліній було виявлено дві ознаки, що знаходяться під контролем генів, розташованих лише в одній хромосомі: забарвлення стиглого колосу (1-а хромосома) і ламкість стиглого колосу (3-я хромосома). Обидві ознаки можуть бути використані для доказів наявності чужинного генетичного матеріалу певних гомеологічних груп в геномі лінії. З двома чужинними хромосомами, 3-ї та 6-ї гомеологічних груп, пов'язано стійкість до борошнистої роси. Серед ламких рослин стійкими були всі, серед стійких ліній багато мали колос непшеничного типу — рихлий, схожий на спельтоїдний. Рихлий колос і розвиток остів або остевидних відростків характерні для чужинно-заміщених ліній, об'єднаних за біохімічними маркерами в носіїв чужинної хромосоми егілопсу з 6-ї гомеологічної групи. Ознака жорсткості колоскової луски є під контролем генів з різних хромосом егілопсу — 1-ї (або 7-ї) і 3-ї. Раніше було встановлено, що в хромосомі 2D *Ae. tauschii* розташовано ген жорсткості колоскової луски *Tg* [10] і *Tg2* [79]. Рецесивні алелі *tg2* у відсутність гену *Q* дають розвиватися вдавленості в основі колоскової луски, домінантні сприяють формуванню луски без вдавленості. Можливо, що подібний ген має хромосоми 2-ї групи і у інших видів егілопсу, хоча луски у них і менш жорсткі у порівнянні з *Ae. tauschii*. Крім того, ця хромосома містить ген, рецесивні алелі якого *w2* проявляються в розвиткові на рослині воскового

нальоту, домінантні $W2^1$ — пригнічують дію рецесивних алелів, і формуються рослини, колос, стебло і листя яких позбавлені воскового нальоту [147]. В нашому дослідженні через відсутність придатного біохімічного маркера не було виділено ліній з заміщенням по 2-й групі гомеологів. Але рослини, позбавлені воскового нальоту, були і розділялися на два типи: колос без воскового нальоту, листя з восковим нальотом, всі вони попали в групу, виділену за біохімічними маркерами 1-ї хромосоми; вся рослина позбавлена воскового нальоту, деякі з них виявились серед ліній з неідентифікованим заміщенням. Саме рослини цього типу мали саму жорстку луску без вдавленості біля основи. Ми вважаємо, що у випадку поєднання трьох ознак - відсутність вдавленості, жорсткість луски і відсутність воскового нальоту на всій рослині - можна припустити, що в чужинно-заміщеній лінії присутня чужинна хромосома з другої гомеологічної групи. Ознака фіолетове забарвлення стебла і вузлів виявилася маркерною для чужинних хромосом 7-ї групи. Форму плеча пов'язано з хромосомами 7 і 6.

Оцінені за перерахованими ознаками пшенично-пирійні лінії розбили на групи, що характеризуються певними чужинними ознаками, і вивчили їх методом електрофорезу білків зерна. Для хромосом 4-ї групи морфологічних маркерних ознак виявлено не було, тому за спектром β -Аму-1 було вивчено всі гексаплоїдні лінії, що беруть початок від Авроага. Крім того, дослідження чужинно - заміщених і доповнених ліній Чайніз Спринг/*Ag. intermedium* і Чайніз Спринг/*Ag. elongatum* дало змогу побачити на ідентифікованому матеріалі, поява яких компонентів спектру конкретної білкової системи пов'язано з присутністю певної хромосоми пирія. В більшості випадків при вивченні наших ліній було знайдено прогнозовану відповідність між наявністю чужинної морфологічної ознаки і наявних на фореграмах відхиленнях від картин, типових для сорту Аврора. Ці відхилення виражались у відсутності зон активності, властивих для критичної хромосоми одного з геномів (частіш за все 1D) сорту Аврора і в появі других

зон активності, ми вважаємо, за рахунок експресії генів пирійного гомеолога. Слідів експресії локусів *Gli-2*, *Per-3*, *Per-4*, *Est-3* не виявлено ні на нашому матеріалі, ні на спектрах пирійно-заміщених ліній сорту Чайніз Спринг. Можливо, має місце перекривання компонентів (зон активності), контрольованих різними геномами. Результати аналізу наведені в таблиці 3.1.

Отже, згрупувавши пшенично-пирійні лінії у відповідності з чужинними ознаками морфології колоса і стебла, котрі для них характерні, і використавши відомості про хромосомну локалізацію генів, що контролюють синтез низки білків, і морфологічних ознак пшенично-егілопсних заміщених ліній, ми ідентифікували такі пшенично-пирійні заміщені лінії: 1Ag(1B)+2Ag(?)+7Ag(7D), 1Ag(1B)+3Ag(3D)+6Ag(6D), 1Ag(1B)+ 6Ag(6D)+7Ag(7D), 3Ag(3D)+6Ag(6D)+7Ag(7D), 1Ag(1D)+2Ag(?), 1Ag(1A)+ 7Ag(7D), 1Ag(1D)+6Ag(6D) і ряд ліній з одинарними заміщеннями хромосом, переважно D-субгенома. Ці лінії становлять значний інтерес для подальшої роботи, оскільки характеризуються більш високим у порівнянні з м'якою пшеницею вмістом білку в зерні, доброю зимостійкістю, стійкістю до борошнистої роси і бурої іржі.

Таблиця 2.6.

Результати вивчення ліній за морфологічними ознаками і електрофоретичними спектрами запасних білків і ферментів

Морфологічна формула лінії*	Дані аналізу електрофоретичних спектрів:	
	нема пшеничної хромосоми	є хромосома пирію
1-5-6-7-8-10	1B(<i>Glu</i> , <i>Gli-1</i>)	1Ag(<i>Glu</i> , <i>Gli-1</i>)
	7D(α - <i>Amy-2</i> , <i>Per-4</i> , <i>Est-3</i>)	7Ag(α - <i>Amy-2</i>)
3-4-5-8-9-10-11	1B(<i>Glu</i> , <i>Gli-1</i>)	1Ag(<i>Glu</i> , <i>Gli-1</i>)
	3D(<i>Est-1</i> , <i>Est-5</i> , <i>Per-3</i>)	3Ag(<i>Est-5</i>)
	6D(α - <i>Amy-1</i>)	6Ag(α - <i>Amy-1</i>)
1-2-3-4-5-7-8-11	1B(<i>Glu</i> , <i>Gli-1</i>)	1Ag(<i>Glu</i> , <i>Gli-1</i>)
	6D(α - <i>Amy-1</i>)	6Ag(α - <i>Amy-1</i>)

Продовження табл. 2.6		
	<i>7D(α-Amy-2, Per-4, Est-3)</i>	<i>7Ag(α-Amy-2)</i>
1-2-3-4-9-10-11	<i>3D(Est-1, Est-5, Per-3)</i>	<i>3Ag(Est-5)</i>
	<i>6D(α-Amy-1)</i>	<i>6Ag(α-Amy-1)</i>
	<i>7D(α-Amy-2, Per-4, Est-3)</i>	<i>7Ag(α-Amy-2)</i>
5-6-8-10	<i>1D(Glu, Gli-1)</i>	<i>1Ag(Glu, Gli-1)</i>
2-5-7-8	<i>1A(Glu, Gli-1)</i>	<i>1Ag(Glu, Gli-1)</i>
	<i>7D(α-Amy-2, Per-4, Est-3)</i>	<i>7Ag(α-Amy-2)</i>
3-4-5-7-8-11	<i>1D(Glu, Gli-1)</i>	<i>1Ag(Glu, Gli-1)</i>
	<i>6D(α-Amy-1)</i>	<i>6Ag(α-Amy-1)</i>
9-10-11	<i>3D(Est-1, Est-5, Per-3)</i>	<i>3Ag(Est-5)</i>
1-2-4-7	<i>7D(α-Amy-2, Per-4, Est-3)</i>	<i>7Ag(α-Amy-2)</i>
5-8	<i>1B(Glu, Gli-1)</i>	<i>1Ag(Glu, Gli-1)</i>
	<i>4D(β-Amy-1)</i>	<i>4Ag(β-Amy-1)</i>

* 1 — фіолетова соломка, 2 — фіолетовий верхній вузол, 3 — остевидні відростки, 4 — колос рихлий або спельтоїдний, 5 — колос світло—коричневий без воскового нальоту, 6 — вся рослина без воскового нальоту, 7 — плече дуже вузьке, 8 — нема поперечної вдавленості в основі колоскової луски, 9 — колосовий стрижень ламкий, 10 — колоскова луска жорстка, 11 — стійкість до борошнистої роси

2.3. Ідентифікація гомеологічної належності чужинного хроматину в стійких лініях — похідних Авродеса

2.3.1. Аналіз електрофоретичних спектрів ізоферментів бета-амілази. Ізоферменти бета-амілази контролюються генами β -*Amy-A1*, β -*Amy-B1* та β -*Amy-D1*, що локалізовані на довгих плечах хромосом, відповідно (цит. за [2]). Отже, аналіз електрофоретичних спектрів ізоферментів бета-амілази дозволяє виявити локус, що походить від *Aegilops speltoides* або відсутність пшеничного локусу β -*Amy-1* в геномі досліджуваних ліній інтрогресивного походження у складі хромосом 4AL, 5AL і 4DL.

Спектр сорту м'якої пшениці Аврора, яка є однією з батьківських форм досліджуваних ліній, представлений чотирма компонентами (зонами активності) (рис. 2.1). Два компоненти, що мають найбільшу рухливість (3 і 4), контролюються 4D хромосомою. Компонент з найменшою рухливістю (компонент 1, рис. 2.1) контролюється 5A хромосомою, а компонент, що розміщується на спектрі під ним (компонент 2, рис. 2.1) – 4A хромосомою [2].

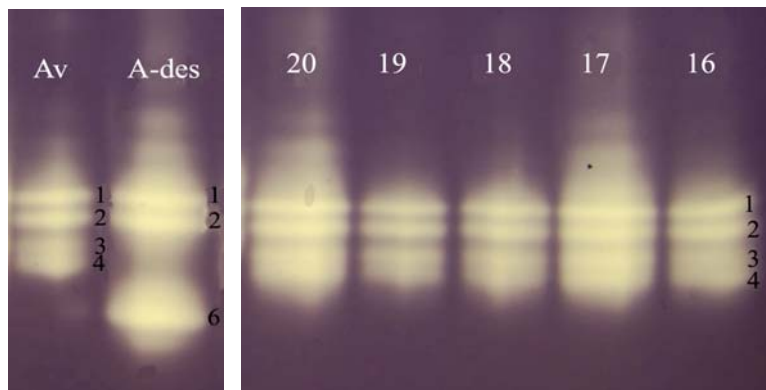


Рис. 2.1. Електрофоретичні спектри ізоферментів бета-амілази, що контролюються генами наступних зразків: Av – сорт м'якої пшениці Аврора; A-des – геномно-заміщена форма Авродеса; 20, 19, 17, 16 – гексаплоїдні лінії, що мають спектр ідентичний спектру Аврори; 1, 2, 3, 4, 6 – зони активності ізоферментів (компоненти). Тут і далі відповідність між шифром лінії та її назвою — див. табл. 1.2.

Спектр геномно-заміщеної форми Авродес (другої батьківської форми досліджуваних ліній) представлений трьома компонентами (зонами активності ізоферментів) (рис. 2.1). Перші два компоненти (компоненти 1 і 2, рис. 2.1) збігаються з такими у сорту Аврора, і присутній ще один компонент (компонент 6, рис. 2.1), що має рухливість більшу за четвертий компонент Аврори. Саме цей останній компонент (зона активності) є маркерним щодо присутності локусу від *Ae. speltoides* [2].

За електрофоретичними спектрами ізоферментів бета-амілази досліджувані лінії можна поділити на три групи: лінії, спектр яких ідентичний спектру сорту Аврора; лінії, що мають неповний спектр Аврори (деякі компоненти сорту Аврора відсутні, компонентів, яких не було у спектрі Аврори, немає); лінії, які мають у спектрі компоненти, які відсутні у Аврори (але не компонент, притаманний Авродесу – компонент 6).

До ліній, що мають спектр ідентичний спектру сорту Аврора, належать такі лінії: 1, 2, 3, 4, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 25, 27, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 45, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 58, 59, 63, 64, 65, 66, 69, 72, 73, 74, 77, 78, 79, 80, 82, 83, 83, 84, 85, 86, 87, 88. Ці лінії не мають елементів електрофоретичного спектра бета-амілази чужинного походження. Електрофоретичні спектри п'яти з цих ліній (16, 17, 18, 19, 20) наведені на рисунку 2.1.

Наступні лінії мають у спектрі компоненти, яких немає у спектрі сорту Аврора: 7, 8, 9, 11, 24, 26, 28, 35, 44, 47, 60, 61, 67, 68, 70, 71, 75, 81, 89. На рисунку 2.2 представлені електрофоретичні спектри ліній, що мають компоненти 1а (з меншою рухливістю за компонент 1) та лінії, що мають у складі спектру компонент 3а (з меншою рухливістю за компонент 3).

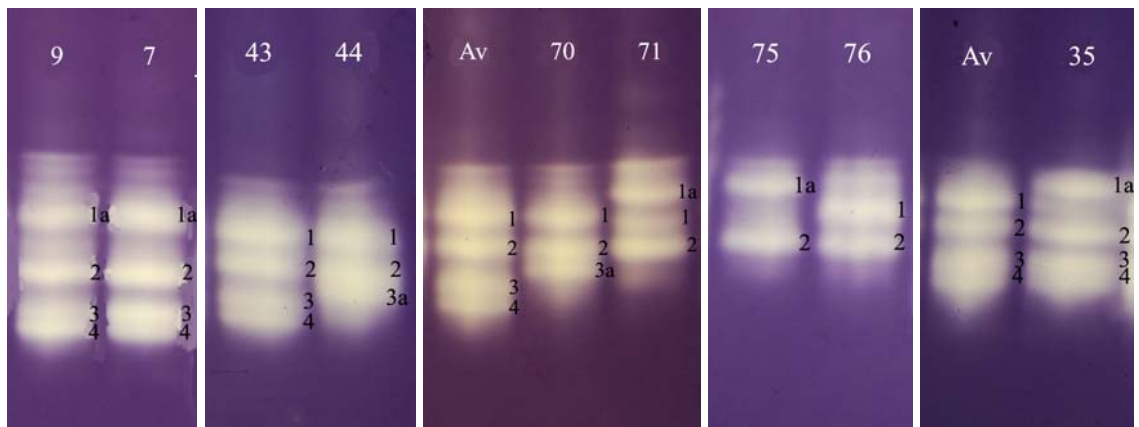


Рис. 2.2. Електрофоретичні спектри ізоферментів бета-амілази. Av – сорт м'якої пшениці Аврора; 9, 7, 43, 44, 70, 71, 75, 76, 35 – номер лінії; 1, 1a, 2, 3, 3a, 4, 6 – зони активності ізоферментів (компоненти).

Група, що має неповний спектр сорту Аврора, включає такі лінії: 6, 10, 12, 46, 48, 57, 62, 76. Лінії 6, 46, 76 не мають двох найбільш рухливих компонентів (компоненти 3 і 4), що контролюються 4D хромосомою (рис. 2.3). Отже, в цих ліній відсутній пшеничний локус β -Amy-D1.

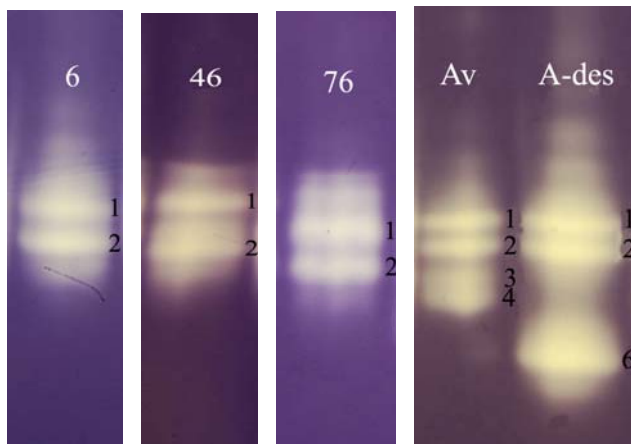


Рис. 2.3. Електрофоретичні спектри ізоферментів бета-амілази ліній, які характеризуються відсутністю компонентів 3 та 4 сорту Аврора. Av – сорт Аврора; A-des – геномно-заміщена форма Авродес; 6, 46, 76 – номер лінії; 1, 2, 3, 4, 6 – зони активності ізоферментів (компоненти).

Лінії 10, 12, 48, 49, 57, 62 не мають в спектрі верхнього компонента (найменш рухливого), який контролюється 5AL хромосомою (рис. 2.4, лінії 10, 12, 48, 49, 62). Тобто пшеничний локус β -Amy-A1, або відсутній, або має інший алель, походження якого невідомо.

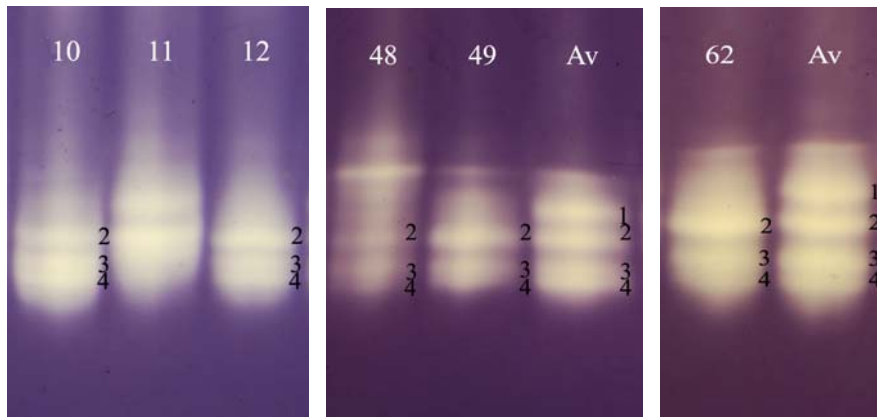


Рис. 2.40. Електрофоретичні спектри ізоферментів бета-амілази ліній, які характеризуються відсутністю компонента 1 сорту Аврора. Av – сорт Аврора; 10, 11, 12, 48, 49, 62 – номер лінії; 1, 2, 3, 4, 6 – зони активності ізоферментів (компоненти).

У складі електрофоретичного спектру ізоферментів бета-амілази жодної з ліній не виявлено компонента 6 (див. рис. 2.1), маркерного щодо присутності локуса від *Aegilops speltoides*.

2.3.2. Аналіз електрофоретичних спектрів ізоферментів альфа-амілази. Гени α -Amy-1, що контролюють синтез ізоферментів malt-амілази, локалізовані на довгих плечах хромосом шостої гомеологічної групи (6AL, 6BL та 6DL). Ізоферменти malt-амілази активні на самому початку проростання насіння (цит. за [2]).

В нижній частині електрофоретичного спектру (більш рухливі зони активності) ізоферментів malt-амілази є триплет компонентів (компоненти 5, 7 і 8, рис. 2.5), який присутній як у спектрі сорту Аврора, так і геномно-заміщеної форми Авродес.

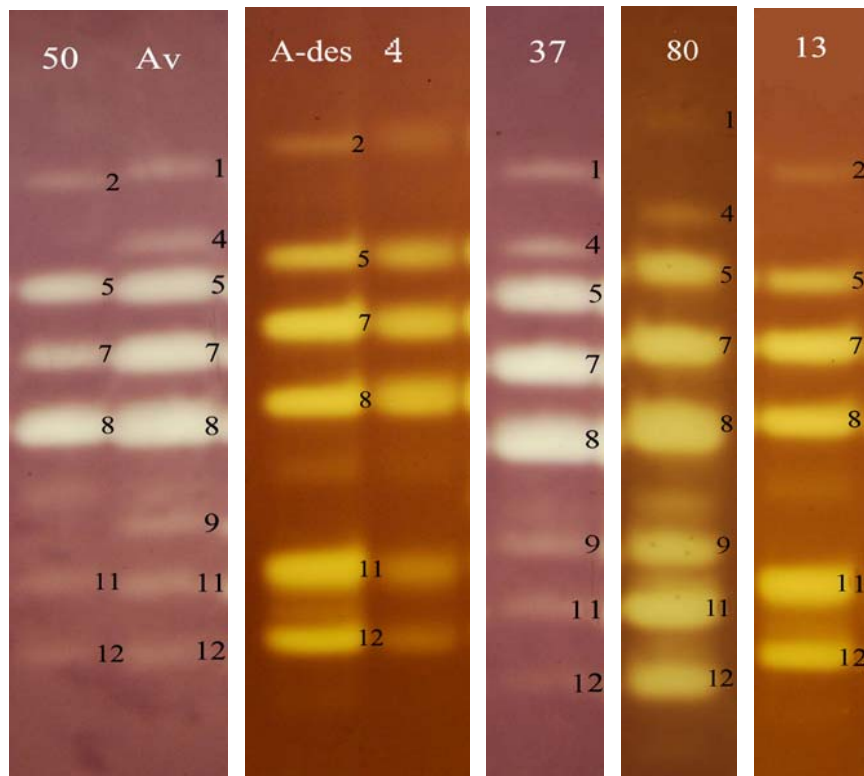


Рис. 2.5. Електрофоретичні спектри ізоферментів альфа-амілази що контролюються генами наступних зразків: Av – сорт м'якої пшениці Аврора; A-des – геномно-заміщена форма Авродес; 37, 80 – спектри ліній, що не відрізняються від Аврори; 50, 4, 13 – спектри ліній, що не відрізняються від Авродесу.

У верхній частині спектра malt-амілази (менш рухливі зони активності ізоферментів) сорт Аврора має два компоненти: компонент 1 і компонент 4 (рис. 2.5). Геномно-заміщена форма Авродес в цій частині спектра має один компонент (компонент 2, рис. 2.5), що має трохи більшу рухливість, ніж компонент 1 спектру Аврори. Компонент 1 контролюється хромосомою 6D, а компонент 4 – хромосомою 6A (цит. за [2]). Пізніше при проростанні насіння, а також у перикарпі насіння, що розвивається, виявляється активність green-амілази. Синтез green-амілази контролюють локуси α -Amy-2, що локалізовані на довгих плечах хромосом сьомої гомеологічної групи [2].

В зоні активності green-амілази сорту Аврора присутні три компоненти (компоненти 9, 11 і 12, рис. 2.5). Спектр ізоферментів green-амілази геномно-заміщеної форми Авродес представлений двома компонентами (компоненти 11 і 12, рис. 2.5), відсутній найменш рухливий компонент (компонент 9).

Компонент 9 зони активності green-амілази контролюється 7D хромосомою, компонент 11 – 7A, компонент 12 - 7B (цит. за [2]).

Серед проаналізованих ліній, спектри двох, 37 та 80, ідентичні спектру сорту м'якої пшениці Аврора (рис. 2.5). Ці лінії не мають чужинних локусів α -Amy-1 і α -Amy-2.

Електрофоретичні спектри трьох ліній – 13, 4 і 50 – ідентичні спектру геномно-заміщеної форми Авродес (рис. 2.5). Тобто у спектрах цих ліній присутній компонент 2 і відсутній компонент 9.

Наступна група ліній мають у спектрі альфа-амілази компонент 9 від сорту Аврора і компонент 2 від геномно-заміщеної форми Авродес. Це лінії 2, 5, 7, 23, 72, 76, 79, 87 (рис. 2.6). Це вказує на те, що є зміна по хромосомі шостої групи, а по сьомій зміни немає.

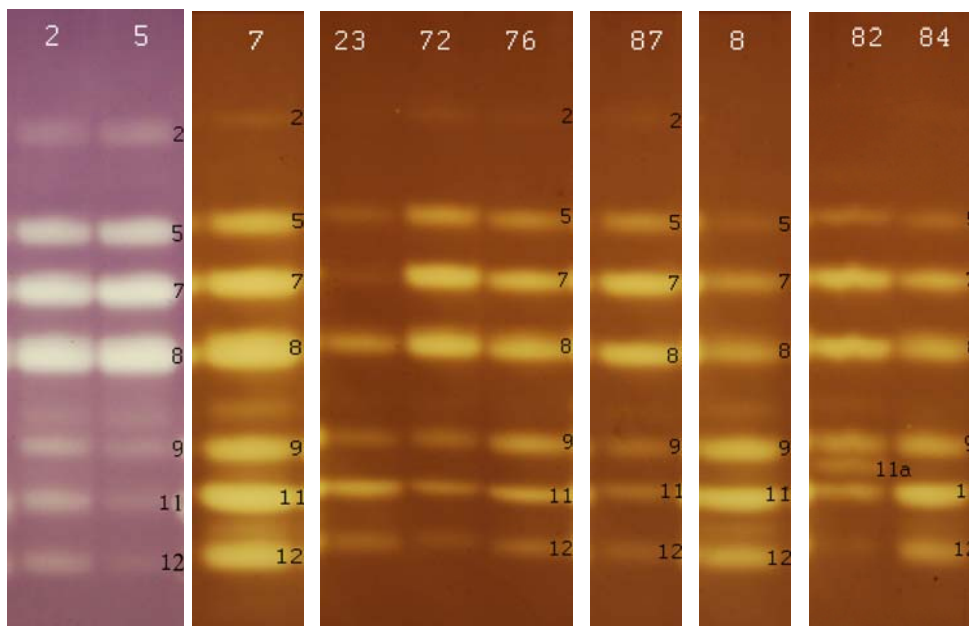


Рис. 2.6. Електрофоретичні спектри ізоферментів альфа-амілази, що контролюються генами наступних зразків: 2, 5, 7, 23, 72, 76, 87 - спектри ліній, що мають компоненти від Аврори та Авродесу; 2 – компонент від Авродесу; 9 – компонент спектра Аврори.

Для певної групи ліній характерний неповний спектр Аврори: 6, 8, 11, 81, 82, 84. У спектрі ліній 6 і 11 відсутній 9 компонент. Лінії 8 і 84 не мають 1 і 4 компонентів (рис. 2.6).

Лінія 40 має компонент 2, який походить від геномно-заміщеної форми Авродес, має триплет 5, 7, 8, але у спектрі відсутні компоненти зони активності green-амілази. Це може бути пов'язано з більш ранньою стадією проростання насінини, взятої для аналізу.

Лінії – 38, 41 і 82 мають компоненти, що не присутні у спектрах батьківських форм. Електрофоретичний спектр лінії 82 представлений на рисунку 2.6), у спектрі цієї лінії присутній компонент 11a, що характеризується трохи меншою рухливістю, ніж компонент 11, і відсутній у спектрах обох батьківських форм.

2.3.3. Аналіз електрофоретичних спектрів запасних білків пшениці глютенінів. Аналізували електрофоретичні спектри високомолекулярних глютенінів (HMW). Гени *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1*, які контролюють високомолекулярні глютеніни, локалізовані на довгих плечах першої гомеологічної групи хромосом (1AL, 1BL та 1DL) [1]. Електрофоретичний спектр сорту Аврора представлений чотирма компонентами (рис. 2.7). Геномно-заміщена форма Авродес у спектрі також має чотири компоненти (рис. 2.7). З них компоненти 7 і 9 контролюються тетраплоїдним компонентом від Аврори (AABB) [1]. Компонент 6 походить від S генома, яким заміщений D геном Аврори. Природа компонента 2 невідома. Отже, маркерним щодо присутності локуса від *Aegilops speltoides* (SS геном) є компонент 6 [1].

Одна група ліній мають спектр високомолекулярних глютенінів, що не відрізняється від спектру сорту Аврора (рис 2.7). До цієї групи належать такі лінії: 1, 2, 12, 15, 21, 22, 23, 24, 26, 27, 33, 34, 42, 43, 45, 54, 56, 67, 68, 72, 73, 76, 77, 89.

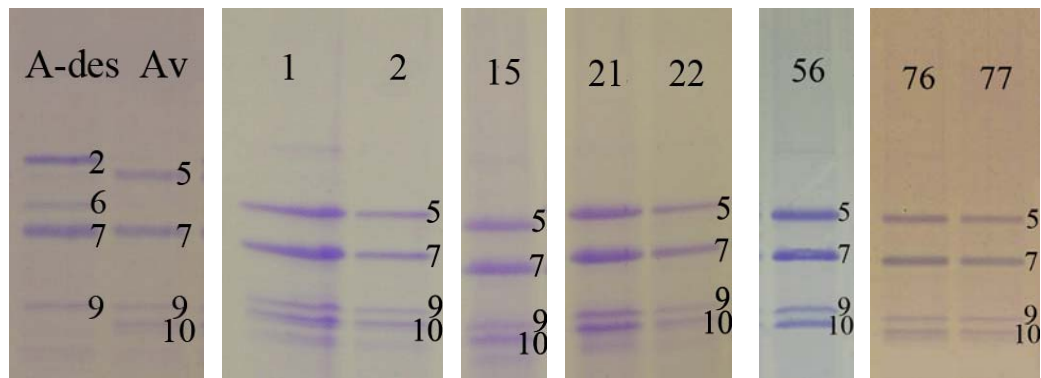


Рис. 2.7. Електрофоретичні спектри запасних білків глютенінів, що контролюються генами наступних зразків: Av – сорт Аврора; A-des – геномно-заміщена форма Авродес; 1, 2, 15, 21, 22, 56, 76, 77 - номер лінії відповідно табл. 1.2); 5, 7, 9, 10 – номер компонента спектру.

Інша група ліній мають в електрофоретичному спектрі компоненти і від сорту Аврора, і компоненти від геномно-заміщеної форми Авродес (компонент 2 та/або компонент 6). До них належать лінії 3, 4, 5, 10, 13, 16, 17, 18, 19, 20, 28, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 44, 49, 55, 57, 60, 61, 66, 69, 70, 80, 81, 82, 86, 87. Але оскільки лише компонент 6 пов'язаний з локусом від *Ae. speltooides*, то серед вище названих ліній виділимо групу, яка має у спектрі компонент 6. Це такі лінії: 10, 35, 57, 70 (рис. 2.8).

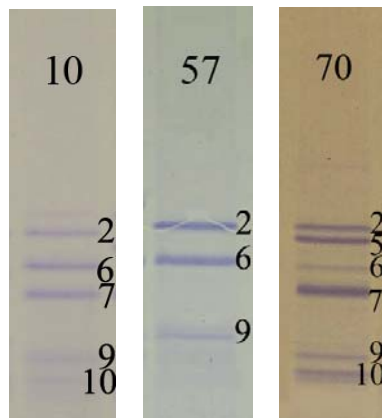


Рис. 2.8. Електрофоретичні спектри запасних білків глютенінів, що контролюються генами наступних зразків: 2, 5, 6, 7, 9, 10 – номер компоненту спектру.

Ще одна група ліній мають у спектрі компоненти, які відсутні у спектрах батьківських форм. До цієї групи належать такі лінії: 6, 7, 8, 9, 11,

14, 29, 30, 31, 32, 41, 46, 47, 48, 50, 51, 52, 53, 58, 59, 62, 63, 64, 65, 71, 75, 78, 79, 83, 84, 85, 88 (рис. 2.9).

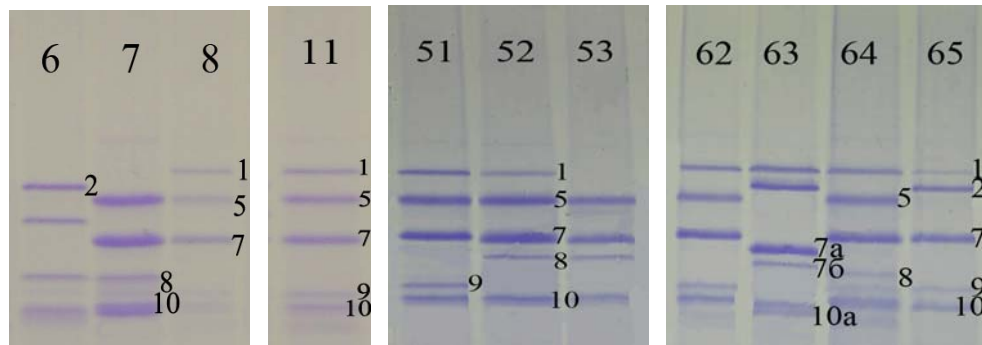


Рис. 2.9. Електрофоретичні спектри запасних білків глютенінів, що контролюються генами наступних зразків: 6, 7, 8, 11, 51, 52, 53, 62, 63, 64, 65 – номер лінії; 1, 8, 7а, 7б, 10а – компоненти, які відсутні у спектрах батьківських форм.

Інтрогресивні лінії, що нами вивчалися, походять від схрещування Авродес х Аврора з наступними 1–2 беккросами з сортом Аврора та тривалим самозапиленням. Процес формування геномів ліній включає зміни хромосом як за рахунок рекомбінацій, так і за рахунок транслокацій. Природним є припущення про появу нових, не притаманних вихідним батьківським формам, алелів у геномі ліній. На яких хромосомах, 1А, 1В чи 1D, локалізуються ці нові алелі, можна дізнатися тільки через схрещування відповідних ліній з сортом Аврора та аналізі особин генерації F₂.

2.3.4. Аналіз електрофоретичних спектрів запасних білків пшениці гліадинів. Основні локуси, що контролюють запасні білки гліадини – *Gli-1* та *Gli-2* [142]. Гени *Gli-1* локалізовані на коротких плечах хромосом першої гомеологічної групи (1AS, 1BS та 1DS). Продуктам цих генів відповідають компоненти ω - та γ -зони на електрофоретичному спектрі (верхня частина спектра) [1]. Гени *Gli-2* локалізовані на коротких плечах хромосом шостої гомеологічної групи (6AS, 6BS, 6DS). Продуктам цих генів на електрофоретичному спектрі відповідають компоненти β - і α -зони (нижня частина спектра) [1].

Електрофоретичний спектр гліадинів сорту Аврора в ω -зоні складається з 15 компонентів (рис. 2.10). Триплет компонентів у верхній частині спектра (компоненти 1, 2 і 3, рис. 2.10) контролюється хромосомою 1D, компоненти 7 і 8 (рис. 2.10) – хромосомою 1A. Компоненти 11, 12, 13, 14 і 15 (рис. 2.10) відповідають транслокації 1BL/1RS (короткого плеча житньої хромосоми 1 на довге плече 1В хромосоми пшениці) у сорта м'якої пшениці Аврора [1].

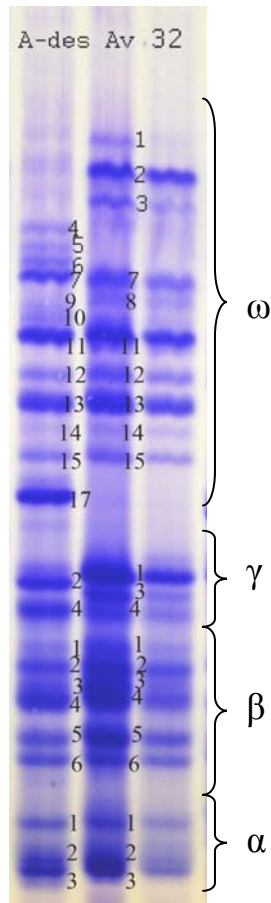


Рис. 2.10. Електрофоретичні спектри запасних білків гліадинів, що контролюються генами наступних зразків: Av – сорт Аврора; A-des – геномно-заміщена форма Авродес; 32 – лінія, що має електрофоретичний спектр ідентичний до спектру Аврори.

В γ -зоні електрофоретичного спектра гліадинів Аврора має три компоненти (компоненти 1, 3 і 4, рис. 2.10). Геномно-заміщена форма Авродес в γ -зоні замість компонента 3 має компонент з трохи меншою рухливістю (компонент 2, рис. 2.10).

Спектри Аврори та Авродеса в α - та β -зонах не відрізняються. Обидві батьківські форми мають у β -зоні по шість компонентів (рис. 2.10), а в α -зоні – по три компоненти (рис. 2.10). Компоненти цих зон, як уже зазначалося вище, є продуктами генів *Gli-2*, локалізованих на 6AS, 6BS, 6DS. Отже, через відсутність різниці між спектрами Аврори і Авродеса у α - та β -зонах, за електрофоретичними спектрами запасних білків гліадинів можна виявити присутність локуса від *Aegilops speltoides* у складі коротких плечей хромосом лише першої гомеологічної групи хромосом.

До ліній, спектр яких не відрізняється від спектра Аврори в усіх зонах належать такі лінії: 1, 4, 32 (рис. 2.10), 58, 11. Група ліній, що мають у спектрі компоненти від Аврори і від Авродеса, включає такі лінії: 22, 23, 45, 54, 55, 57, 59, 63 (рис. 2.11). Велика група ліній мають в ω -зоні компонент з великою рухливістю (рис. 2.11, компонент 19).

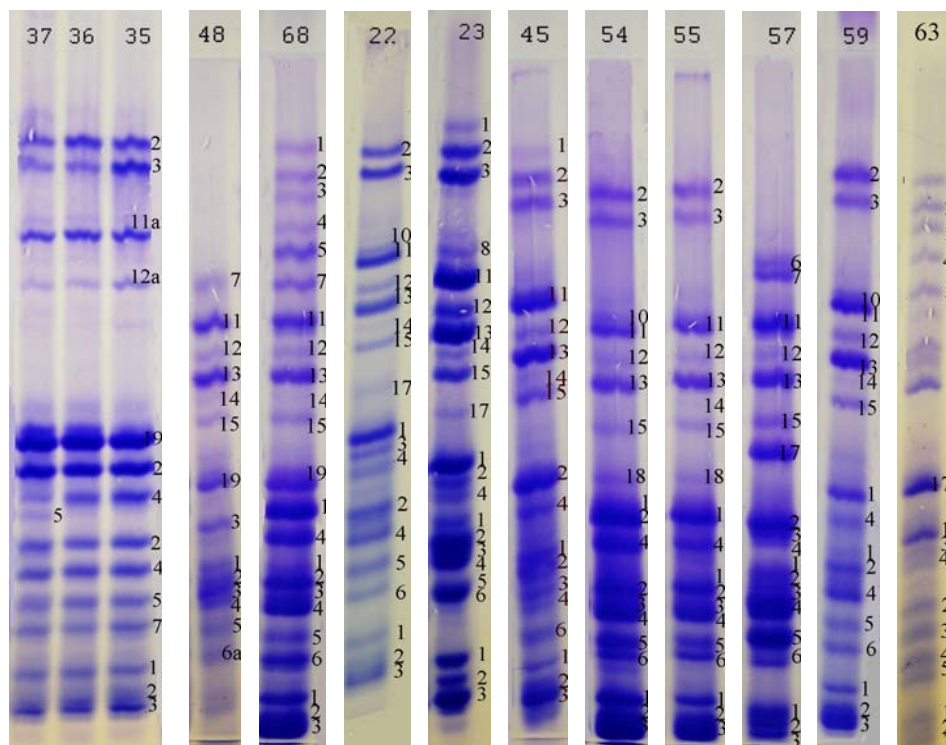


Рис. 2.11. Електрофоретичні спектри запасних білків гліадинів, що контролюються генами наступних зразків: 35, 36, 37, 48, 68 – спектри ліній, що мають компонент 19; 22, 23, 45, 54, 55, 57, 59, 63 – спектри ліній, що мають компоненти від обох батьківських форм.

Компонент 19 (рис. 2.11) відсутній у спектрах батьківських форм. Поява цього компонента майже у всіх випадках пов'язана зі зникненням компонентів 11-15 ω -зони (рис. 2.11, лінії 35–37). Таке явище спостерігали у ліній: 2, 3, 6, 7, 8, 9, 13, 14, 16, 19, 25, 27, 29, 30, 33, 35, 37, 38, 41, 44, 46, 47, 49, 64, 67, 73, 76, 78, 79, 80, 81. Лише у двох ліній – 48 і 68 – поява компонента 19 в ω -зоні не супроводжується зникненням компонентів 11-15 (рис. 2.11, лінії 48 і 68).

Інша група ліній характеризується присутністю у спектрі компонентів, яких немає у спектрах батьківських форм, але відсутністю компонента 19. Це такі лінії: 3, 5, 12, 15, 18, 26, 28, 39, 42, 43, 50, 51, 53, 56, 60, 61, 72, 75, 77, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88 (рис. 2.12).

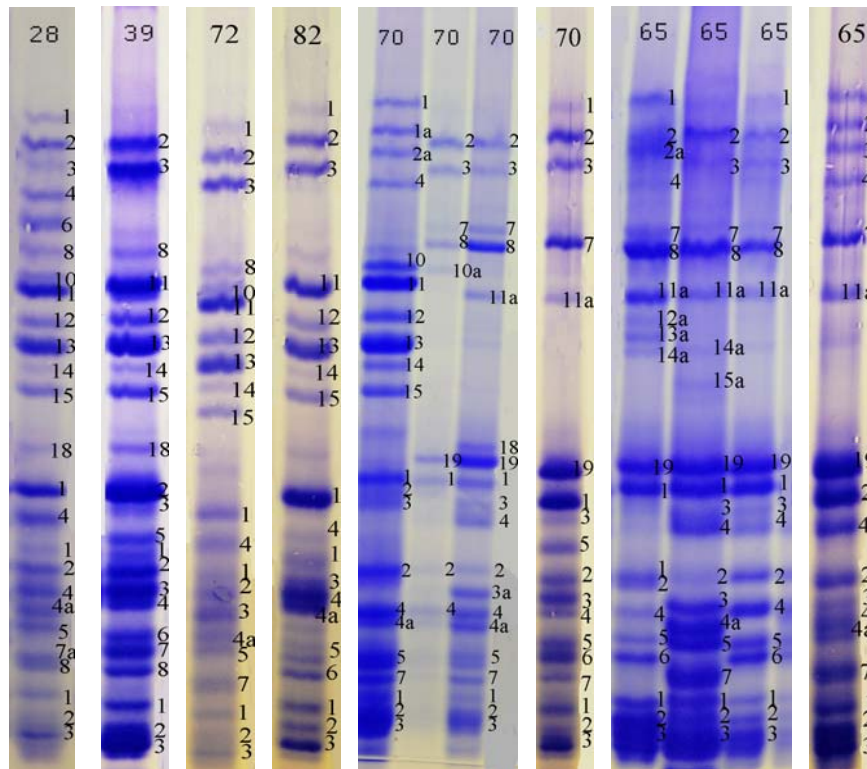


Рис. 2.12. Електрофоретичні спектри запасних білків гліадинів, що контролюються генами наступних зразків: 28, 39, 72, 82 – спектри ліній, що мають компоненти, які відсутні у спектрах обох батьківських форм; 70, 65 – спектри ліній, у яких спостерігалася різниця спектрів між чотирма зернівками всередині лінії.

Для виявлення можливого поліморфізму всередині лінії було проаналізовано по чотири зернівки з кожної лінії за електрофоретичними

спектрами гліадинів. Різниця між спектрами чотирьох зернівок була виявлена для ліній: 10, 17, 20, 24, 31, 36, 40, 52, 62, 65, 66, 69, 70, 71, 89.

2.3.5. Характеристика ліній щодо наявності генетичного матеріалу від *Aegilops speltoides*. Відповідно до результатів аналізу електрофоретичних спектрів білків можна зробити висновок про присутність у геномі досліджуваних ліній відповідних локусів від *Ae. speltoides*.

Лінії 2, 5, 7, 13, 23, 40, 72, 76 і 87 мають у складі довгих плечей хромосом шостої гомеологічної групи локус α -*Amy-1* від *Ae. speltoides* (на електрофоретичному спектрі ізоферментів альфа-амілази присутній компонент 2). Цей локус може перебувати у складі транслокації, заміщення плеча хромосоми, або заміщення цілої хромосоми. Для встановлення останнього необхідне подальше дослідження.

Лінії 10, 35, 57, 70 мають локус *Glu-1* від *Ae. speltoides* у складі довгих плечей першої гомеологічної групи хромосом (відповідний компонент 6 на електрофоретичному спектрі запасних білків глютенінів).

Такі лінії: 22, 23, 45, 54, 55, 57, 59 і 63 мають гліадин-кодуючий локус *Gli-1* від *Ae. speltoides* у складі коротких плечей хромосом першої гомеологічної групи (на електрофоретичному спектрі гліадинів у ω - та/або γ -зоні присутні компоненти зі спектра геномно-заміщеної форми Авродес, які відсутні у спектрі Аврори).

Лінія 57 має локуси від *Ae. speltoides* на довгому і на короткому плечі хромосоми першої гомеологічної групи (1D): *Glu-1* на довгому плечі і *Gli-1* на короткому плечі. Оскільки дві транслокації на два плеча однієї хромосоми і, при тому, щоб обидві включали досліджувані локуси (*Glu-1* і *Gli-1*), досить рідкісне явище, можна з високою часткою імовірності припустити, що в даному випадку присутнє заміщення всієї хромосоми (1D на 1S).

2.4. Характеристика інтрогресивних ліній та генотипів м'якої пшениці за електрофоретичним спектрами продуктів ампліфікації з праймерами до локусів хромосом 3-єї гомеологічної групи

2.4.1. Обґрунтування сенсу дослідження. Джерелом найбільш ефективних генів *Pm* для пшениці є егілопси секції *Sitopsis*, і питання перенесення нових генів *Pm* від видів цієї секції до генетичного пулу м'якої пшениці залишається актуальним. Перенесення чужинних генів стійкості від дикорослих родичів через статеві схрещування є справою непростого, тривалою та пов'язаною з оцінкою великих рослинних популяцій, що розщеплюються, за стійкістю до захворювання та добором стійких нащадків. Ефективність роботи підвищується, якщо для гена стійкості, який переноситься, знайдено молекулярно-генетичний маркер, щільно з ним зчеплений [61, 99, 128].

Добір за таким маркером, який можна буде здійснювати не на дорослих рослинах, а на ДНК паростків, покликаний полегшити та скоротити роботу, пов'язану з перенесенням гена від дикорослого джерела до генетичного пулу пшениці. Оскільки донором чужинного гена стійкості завжди є конкретні генотипи пшениці, які є сучасними, високопродуктивними, районованими сортами, серед генотипів — потенційних реципієнтів чужинного гена, потрібно знайти такі, які будуть відрізнятися за алелем молекулярно-генетичного маркера гена стійкості від ліній — донорів гена стійкості. У іншому разі цей маркер не можна буде використовувати для скринування рослин популяцій, що розщеплюються, отриманих від схрещування донор х реципієнт. Тому першим кроком у роботі, спрямованій на перенесення гена стійкості від рослини-донора до рослини-реципієнта є перевірка алельного складу генотипів — потенційних реципієнтів чужинного гена для виявлення сортів з альтернативними алелями маркерного гена.

Виконане дослідження спрямована на характеристику низки сучасних сортів м'якої пшениці та інтрогресивних ліній — похідних Аврозису щодо

поліморфізму стосовно мікросателітних локусів, картованих на хромосомах 3-ої гомологічної групи пшениці у порівнянні с генотипом Аврора та геномно-заміщених форм, отриманих на основі тетраплоїдного компоненту AABB його геному, Авродес (AABBSS), Аврозис (AABBS^{1S}¹), Авролата (AABBUU). Вибір хромосоми 3D визначився результатами попереднього вивчення інтрогресивних ліній — похідних геномно-заміщених форм. За допомогою біохімічних та морфологічних маркерів, а також шляхом вивчення мейотичних конфігурацій хромосом у M1 МКП специфічних гібридів пшениці було встановлено, що ген стійкості до борошнистої роси від *Ae. sharonensis* до м'якої пшениці передано у складі хромосоми 3S¹ чи її транслокацій на хромосому 3D пшениці [7, 144], а від *Ae. speltoides*— у складі хромосоми 3S або її транслокації на гомеологічні хромосоми геному D пшениці [143]. Тому вивчався алельний поліморфізм за мікросателітними локусами, локалізованими на хромосомі 3D [118, 129, 132, 137].

2.4.2. Характеристика генотипів м'якої пшениці за електрофоретичним спектрами продуктів ампліфікації. Результати порівняння спектрів ампліфікації у вивченого рослинного матеріалу з праймерами до мікросателітів, локалізованих на хромосомі 3D, узагальнені у табл. 2.7. З 14 перевірених мікросателітних локусів придатними для подальшої роботи з ними виявились шість.

Для того, щоб охарактеризувати досліджені генотипи м'якої пшениці щодо їх придатності слугувати реципієнтом для гена стійкості до борошнистої роси (*Pm*) інтрогресивного походження потрібно здійснити наступні порівняння електрофоретичних спектрів компонентів ампліфікації за кожним мікросателітом: 1) спектр досліджуваного генотипу зі спектром генотипу Аврора як рекурентного при створенні інтрогресивних ліній; 2) спектр генотипу Аврора зі спектрами геномно-заміщених форм Аврозис, Авролата та Авродес, на базі яких було створено інтрогресивні лінії. Згадані електрофоретичні спектри наведено на рис. 2.13–2.18, а результати порівняння спектрів — у табл. 2.8.

Таблиця 2.7

Маркер	Хромосомна локалізація	Повтор	Масса, п. н.	Придатність для аналізу
<i>Xwmc55</i> 2	3DL	(GT) ₂₅	140 - 160	дифузний продукт
<i>Xcfd201</i>	3DS	(GCC) ₆	218	дифузний продукт
<i>Xcfd55</i>	3DS	(GT) ₂₃	263	поліморфний продукт
<i>Xcfd141</i>	3DS	(TCAA) ₄	155	є продукт
<i>Xcfd64</i>	3DS	(CT) ₉ (CA) ₂₂	263	поліморфний продукт
<i>Xcfd34</i>	3DS	(GGA) ₅ (G) ₁₃	203	є продукт
<i>Xgwm66</i> 4	3DL	(GA) ₂₂	146 - 148	дифузний продукт
<i>Xcfd152</i>	3DL	(TC) ₂₄	288	поліморфний продукт
<i>Xcfd211</i>	3DL	(GA) ₁₇	283	є продукт
<i>Xcfd223</i>	3DL	(TG) ₁₈	153	є продукт
<i>Xcfd9</i>	3DL	(TC) ₂₉	209	поліморфний продукт
<i>Xgdm72</i>	3DL	(CT) ₂₅	не відомо	немає продукту
<i>Xbarc71</i>	3DL	(TAGA) ₇ (TA) ₂	не відомо	немає продукту
<i>Xcfd35</i>	3DS	(GT) ₁₃ (CT) ₂₀	191	немає продукту

За мікросателітним локусом *Xcfd55* (рис. 1, табл. 2) спектр генотипу Аврора характеризується поодиноким продуктом ампліфікації, від якого не відрізняються продукти ампліфікації генотипів Селянка, Лелека та Ювілейна. Іншими за рухомістю компонентами спектру, також поодинокими, характеризуються генотипи Авродес, Ніконія, Тіра, Панна, Вдала, Подолянка, Крижинка та Альбідум 114. Генотипи Аврозис, Авролата, Одеська 267, Альбатрос характеризуються 0-алелем.

За мікросателітним локусом *Xcfd64* (рис. 2, табл. 2) спектр генотипу Аврора характеризується двома компонентами, головним та більш слабким, який має меншу рухомість. Від цієї картини не відрізняється спектр продуктів ампліфікації генотипів Авродес, Тіра, Панна, Альбідум 114. Іншими за рухомістю компонентами спектру характеризуються генотипи

Аврозис, Ніконія, Селянка, Лелека, Крижинка та Альбідум 114. Генотипи Авролата, Одеська 267, Вдала, Подолянка характеризуються 0-алелем.

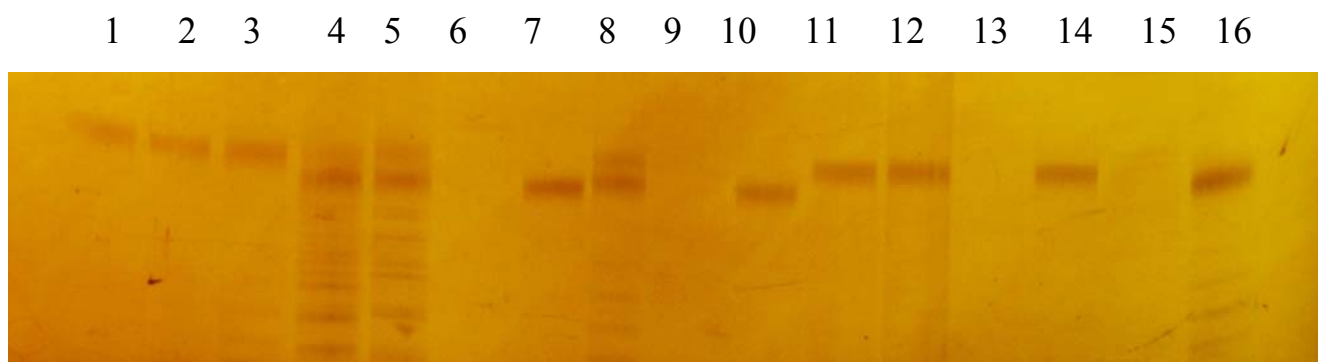


Рис. 2.13. Електрофоретичні спектри продуктів ампліфікації з праймерами до мікросателітного локусу *Xcfd55*: 1, 11 – Ніконія, 2 – Крижинка, 3 – Подолянка, 4 – Панна, 5 – Вдала, 6 – Альбатрос одеський, 7 – Аврора, 8 – Альбудум 114, 9 – Одеська 267, 10 – Селянка, 12 – Тіра, 13 – Авролата, 14 – Авродес, 15 – Аврозис, 16 – Ювілейна.

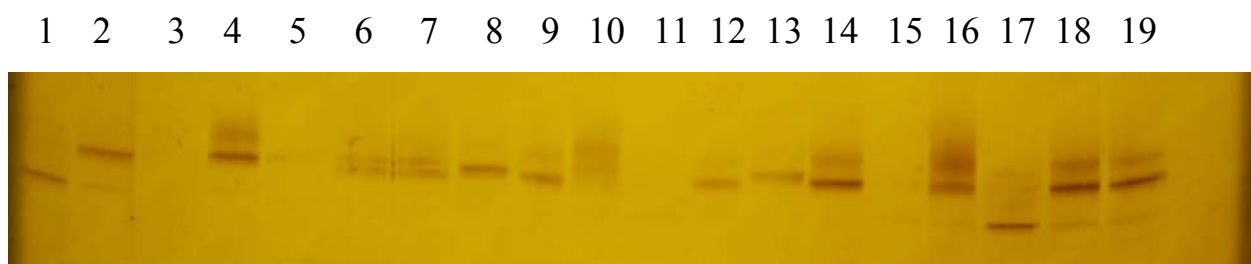


Рис. 2.14. Електрофоретичні спектри продуктів ампліфікації з праймерами до мікросателітного локусу *Xcfd64*: 1, 17 – Аврозис, 2 – Крижинка, 3 – Подолянка, 4 – Панна, 5 – Вдала, 8 – Лелека, 9 – Ювілейна, 10 – Альбідум 114, 11 – Одеська 267, 12 – Селянка, 13 – Ніконія, 14 – Тіра, 15 – Авролата, 16 – Авродес, 18, 19 – Аврора.

За мікросателітним локусом *Xcfd141* (рис. 3, табл. 2) спектр генотипу Аврора характеризується поодиноким розмитим продуктом ампліфікації.

За мікросателітним локусом *Xcfd152* (рис. 4, табл. 2) спектр генотипу Аврора характеризується поодиноким продуктом ампліфікації, від якого не відрізняються продукти ампліфікації генотипів Одеська 267, Ніконія, Тіра,

Панна, Лелека, Вдала, Альбатрос одеський та Ювілейна. Спектр Аврозиса, генотипи Авродеса та Авролати характеризуються 0-алелем.



Рис. 2.15. Електрофоретичні спектри продуктів ампліфікації з праймерами до мікросателітного локусу *Xcfd141*: 1, 9 – Ювілейна, 2, 17 – Аврозис, 3 – Ніконія, 4 – Крижинка, 5 – Подолянка, 6 – Панна, 7 – Вдала, 8 – Лелека, 10 – Альбідум 114, 11 – Одеська 267, 12 – Селянка, 13 – Ніконія, 14 – Тіра, 15 – Авролата, 16 – Авродес, 18 – Аврора.

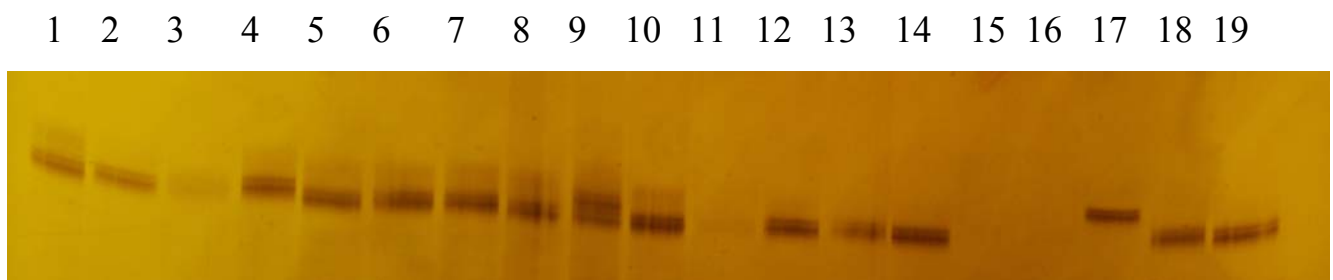


Рис. 2.16. Електрофоретичні спектри продуктів ампліфікації з праймерами до мікросателітного локусу *Xcfd152*: 1, 8 – Ювілейна, 2 – Селянка, 3 – Крижинка, 4 – Подолянка, 5 – Панна, 6 – Вдала, 7 – Альбатрос одеський, 9 – Альбідум 114, 10 – Аврора, 11 – Одеська 267, 12 – Селянка, 13, 18 – Ніконія, 14, 19 – Тіра, 15 – Авролата, 16 – Авродес, 17 – Аврозис.

За мікросателітним локусом *Xcfd211* (рис. 5, табл. 2) спектр генотипу Аврора характеризується поодиноким продуктом ампліфікації, від якого не відрізняються продукти ампліфікації генотипів Авродес, Тіра, Крижинка, Альбатрос одеський, Альбідум 114 та Ювілейна. Іншими за рухливістю компонентами спектру, також поодинокими, характеризуються генотипи

Ніконія, Селянка, Панна, Лелека. Генотипи Аврозис, Авролата, Одеська 267, Вдала та Подолянка характеризуються 0-алелем.

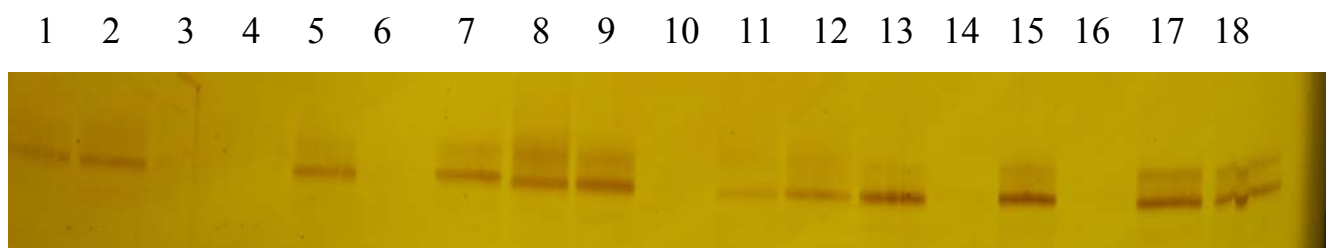


Рис. 2.17. Електрофоретичні спектри продуктів ампліфікації з праймерами до мікросателітного локусу *Xcfd211*: 1, 5 – Панна, 2 – Крижинка, 3, 16 – Аврозис, 4 – Подолянка, 6 – Вдала, 7 – Лелека, 8 – Ювілейна, 9 – Альбідум 114, 10 – Одеська 267, 11 – Селянка, 12 – Ніконія, 13 – Тіра, 14 – Авролата, 15 – Авродес, 17, 18 – Аврора.

За мікросателітним локусом *Xcfd223* (рис. 6, табл. 2) спектр генотипу Аврора характеризується чотирма компонентами: два головних та два мінорних з меншою електрофоретичною рухливістю. Від цього спектру відсутністю мінорних компонентів відрізняються спектри всіх досліджених генотипів крім Ювілейної. Спектр Аврозису відрізняється від спектру Аврори наявністю ще одного, більш повільного, мінорного компоненту. Нуль-алелів за цим локусом не спостерігали.



Рис. 2.18. Електрофоретичні спектри продуктів ампліфікації з праймерами до мікросателітного локусу *Xcfd223*: 1 – Одеська 267, 2 – Крижинка, 3 – Подолянка, 4 – Панна, 5 – Вдала, 6 – Лелека, 7 – Ювілейна, 8 – Альбідум 114, 9 – Одеська 267, 10, 11 – Селянка, 12 – Ніконія, 13 – Тіра, 14 – Авролата, 15 – Авродес, 16 – Аврозис, 17, 18 – Аврора.

Якщо стійка лінія, похідна однієї з трьох геномно-заміщених форм, Аврозис, Авродес чи Авролата, має електрофоретичний спектр компонентів ампліфікації за певним мікросателітним локусом такий, який є характерним для генотипу Аврора, а не генотипу вихідної геномно-заміщеної форми, вона може використовуватися у якості донора гена стійкості при схрещуванні з такими генотипами м'якої пшениці, які за спектром ампліконів того самого мікросателітного локусу відрізняються від генотипу Аврора. Такими генотипами є: Подолянка за локусами *Xcfd55*, *Xcfd64*, *Xcfd152*, *Xcfd211* та *Xcfd223*; Альбідум 114, Крижинка за локусами *Xcfd55*, *Xcfd64*, *Xcfd152* та *Xcfd223*; Вдала, Ніконія та Одеська 267 за локусами *Xcfd55*, *Xcfd64*, *Xcfd211* та *Xcfd223*; Лелека та Селянка за локусами *Xcfd64*, *Xcfd211* та *Xcfd223*; Панна за локусами *Xcfd55*, *Xcfd211* та *Xcfd223*; Тіра за локусами *Xcfd55* та *Xcfd211*. Генотип Ювілейна за жодним з досліджених мікросателітних локусів не відрізняється за електрофоретичним спектром від генотипу Аврора. Порівняння електрофоретичних спектрів за дослідженими мікросателітними локусами обраних генотипів м'якої пшениці та трьох геномно-заміщених форм дає змогу вичленити ті пари генотипів сорт–геномно-заміщена форма, у яких можна використовувати сорт пшениці як реципієнт генетичного матеріалу геномно-заміщеної форми навіть за відсутністю різниці між сортом-реципієнтом та генотипом Аврори, лише б така різниця за мікросателітним локусом виявлялась для пари сорт–реципієнт–геномно-заміщена форма. За нашими даними, знайдено такі пари для наступних мікросателітних локусів: Ювілейна–Аврозис за локусами *Xcfd55*, *Xcfd64*, *Xcfd152*, *Xcfd211* та *Xcfd223*; Ювілейна–Авродес за локусами *Xcfd55*, *Xcfd152*, *Xcfd223*; Ювілейна–Авролата за локусами *Xcfd55*, *Xcfd64*, *Xcfd152*, *Xcfd211* та *Xcfd223*; Подолянка–Аврозис та Авролата за локусами *Xcfd55*, *Xcfd64*, *Xcfd152*, *Xcfd211* та *Xcfd223*; Подолянка–Авродес за локусами *Xcfd55*, *Xcfd152* та *Xcfd223*; Альбідум 114–Аврозис та Авролата, Крижинка–Аврозис та Авролата за локусами *Xcfd55*, *Xcfd64*, *Xcfd152*, *Xcfd211* та *Xcfd223*; Альбідум 114–Авродес, Крижинка–Авродес за локусами *Xcfd55*,

Xcfd64, Xcfd152 та Xcfd223» Вдала, Ніконія та Одеська 267 за локусами Xcfd55, Xcfd64, Xcfd211 та Xcfd223; Вдала–Аврозис за локусами Xcfd55,

Таблиця 2.8

Результати порівняння спектрів продуктів ампліфікації з праймерами до мікросателітних локусів хромосоми 3D різних генотипів м'якої пшениці та її геномно-заміщених форм із спектром генотипу Аврора

Генотип	Мікросателітні локуси					
	<i>Xcfd 55</i>	<i>Xcfd 64</i>	<i>Xcfd 141</i>	<i>Xcfd 152</i>	<i>Xcfd 211</i>	<i>Xcfd 223</i>
Авродес	Інший	Авр	Авр	0	Авр	Інший
Аврозис	0	інший	Авр	інший	0	Інший
Авролата	0	0	Авр	0	0	Інший
Альбатрос одеський	0	Авр	Авр	Авр	Авр	Інший
Альбідум 114	Інший	інший	Авр	інший	Авр	Інший
Вдала	Інший	0	Авр	Авр	0	Інший
Крижинка	Інший	інший	Авр	інший	Авр	Інший
Лелека	Авр	інший	Авр	Авр	інший	Інший
Ніконія	Інший	інший	Авр	Авр	інший	Інший
Одеська 267	0	0	Авр	Авр	інший	Інший
Панна	Інший	Авр	Авр	Авр	інший	Інший
Подольнка	Інший	0	Авр	інший	0	Інший
Селянка	Авр	інший	Авр	інший ¹	інший	Інший
Тіра	Інший	Авр	Авр	Авр	Авр	Інший
Ювілейна	Авр	Авр	Авр	Авр	Авр	Інший

Примітки: Авр — рухливість продукта ампліфікації така, яка у продукта ампліфікації генотипу Аврора, інший — рухливість продукта ампліфікації відрізняється від рухливості продукта ампліфікації генотипу

Аврора, інший¹ — продукт ампліфікації відрізняється тільки за інтенсивністю.

Xcfd64; Вдала–Авродес за локусами *Xcfd64*, *Xcfd211*; Вдала–Авролата за локусами *Xcfd55*, *Xcfd152*; Ніконія–Аврозис за локусами *Xcfd55*, *Xcfd152*, *Xcfd211*; Ніконія–Авродес за локусами *Xcfd64*, *Xcfd152*, *Xcfd211*; Ніконія–Авролата за локусом *Xcfd55*, *Xcfd64*, *Xcfd211*; Одеська 267–Аврозис за локусами *Xcfd64*, *Xcfd152*; Одеська 267–Авродес за локусами; Одеська 267–Авролата за локусом *Xcfd152*; Лелека–Аврозис за локусами *Xcfd55*, *Xcfd152* та *Xcfd211*; Лелека–Авродес та Авролата за локусами *Xcfd55*, *Xcfd64*, *Xcfd152* та *Xcfd211*; Селянка–Аврозис за локусами *Xcfd55*, *Xcfd211*; Селянка–Авродес за локусами; Селянка–Авролата за локусами *Xcfd64*, *Xcfd211* та *Xcfd223*; Лелека та Селянка за локусами *Xcfd64*, *Xcfd211* та *Xcfd223*; Панна–Аврозис за локусами *Xcfd55*, *Xcfd64*, *Xcfd152* та *Xcfd211*; Панна–Авродес за локусом *Xcfd152*; Панна–Авролата за локусами *Xcfd55*, *Xcfd64* та *Xcfd152*; Тіра–Аврозис за локусами *Xcfd55*, *Xcfd64*, *Xcfd152* та *Xcfd211*; Тіра–Авродес за локусом *Xcfd152*.; Тіра–Авролата *Xcfd55*, *Xcfd64*, *Xcfd152* та *Xcfd211* (табл. 2.8).

2.4.3. Характеристика інтрогресивних ліній електрофоретичним спектрами продуктів ампліфікації. Сорт м'якої пшениці Аврора, на генетичній основі якого було створено інтрогресивні лінії, уражається борошнистою росою на рівні 3-х балів. Геномно-заміщена форма Аврозис характеризується повною резистентністю до борошнистої роси, 9 балів. Стійкість до борошнистої роси інтрогресивних ліній м'якої пшениці — похідних Аврозису пояснюється включенням до геному генотипу Аврора хромосоми 3S¹ виду *Aegilops sharonensis*, повний геном якого входить до складу геномно-заміщеної форми Аврозис, чи якоїсь її частини. В першому випадку електрофоретичний спектр стійкої лінії буде характеризуватися наявністю продукту ампліфікації, характерного для генотипу Аврозис за всіма мікросателітними маркерами, які досліджувались та за якими генотип Аврозису дає спектр продуктів ампліфікації, який

відрізняється від спектру Аврори. Якщо стійка лінія не є чужинно-заміщеною, ген стійкості входить до складу чужинної транслокації на хромосому пшениці. В цьому випадку лінія за певним мікросателітним локусом може бути схожою як з генотипом Аврозису, якщо до складу геному Аврора ген стійкості увійшов разом з мікросателітним локусом, так і з генотипом Аврори, якщо зчеплення між вказаними локусами під час транслокації було розірвано. Отже, для пошуку інтрогресивних ліній, придатних для схрещування з сортом Аврора чи з іншими сортами м'якої пшениці для створення популяції, що розщеплюється, придатною для роботи з нею методом BSA, потрібно для кожного мікросателітного локусу порівняти спектри компонентів ампліфікації інтрогресивної лінії, генотипу Аврора як рекурентного при створенні інтрогресивних ліній та геномно-заміщеної форми Аврозис, джерело чужинних інтрогресій у лініях. На рисунках 2.19–2.30 представлені електрофоретичні спектри продуктів ампліфікації з праймерами до вказаного у підпису до рисунку мікросателітного локусу.

За мікросателітним локусом *Xcfd55* (рис. 2.19–2.21, табл. 2.9) від спектру Аврори не відрізняються спектри продуктів ампліфікації 11 інтрогресивних ліній — похідних Аврозису. Спектр Аврозису та деяких ліній характеризується наявністю більш повільного компонента. Три інтрогресивні лінії характеризуються 0-алелем.

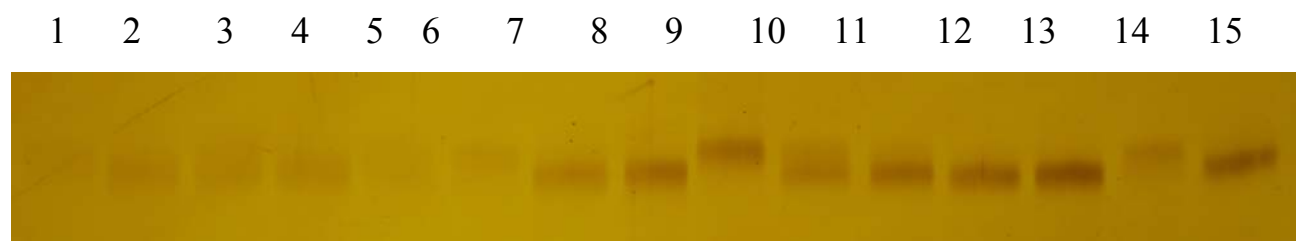


Рис. 2.19. Локус *Xcfd55*: 1 – res131, 2 – res130, 3 – res129, 4 – res128, 5 – res127, 6, 14 – Аврозис, 7 – Аврора, 8 – res126, 9 – res122, 10 – res121, 11 – res118, 12 – res117, 13 – res115.

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19

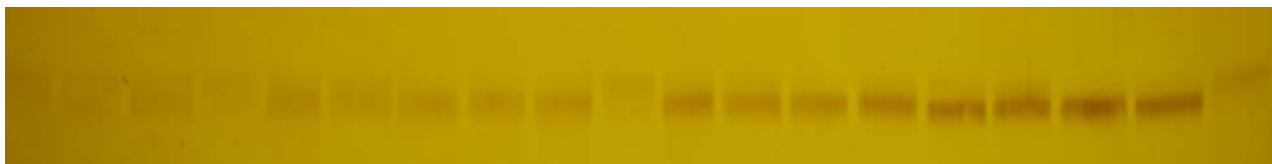


Рис. 2.20. Електрофоретичні спектри продуктів ампліфікації з праймерами до мікросателітного локусу *Xcfd55-3D*: 1 – res131, 2 – res127, 3 – res134, 4 – res132, 5 – res148, 6 – res146, 7 – res145, 8 – res144, 9 – res143, 10 – Аврозис, 11 – Аврора, 12 – res142, 13 – res144, 14 – res140, 15 – res139, 16 – res138, 17 – res137, 18 – res135, 19 – Аврозис.

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16

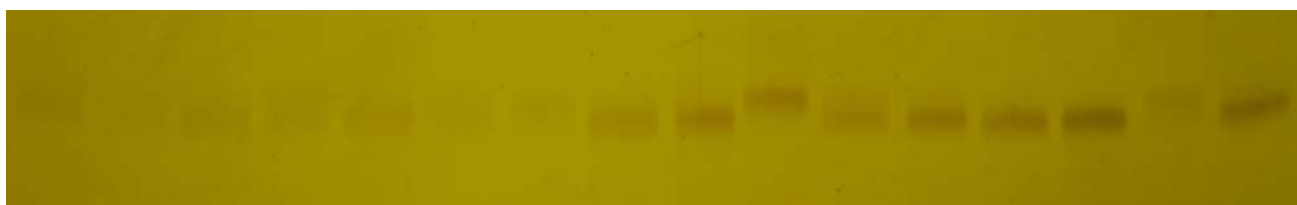


Рис. 2.21. Електрофоретичні спектри продуктів ампліфікації з праймерами до мікросателітного локусу *Xcfd55-3D*: 1 – res130, 2 – res134, 3 – res132, 4 – res131, 5 – res130, 6 – resres129, 7 – Аврозис, 8 – Аврора, 9 – res126, 10 – res122, 11 – res121, 12 – res118, 13 – res117, 14 – res115, 15 – Аврозис, 16 – Аврора.

За мікросателітом *Xcfd64* (рис. 2.22–2.23, табл. 2.9) спектр Аврори не відрізняється від спектрів 19-ти інтрогресивних ліній, але відрізняється від спектру Аврозису.

За мікросателітним локусом *Xcfd141* (рис. 2.24) спектр генотипу Аврора та всіх інтрогресивних ліній характеризується поодиноким розмитим продуктом ампліфікації. Інший спектр, без жодного продукту ампліфікації має тільки Аврозис (табл. 2.9).

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19

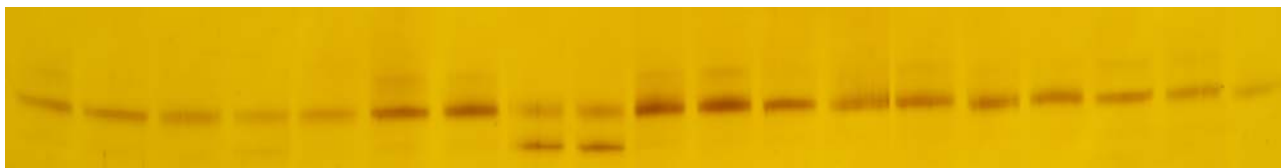


Рис. 2.22 Локус *Xcfd 64*: 1 – res137, 2 – res135, 3 – res134, 4 – res132, 5 – res131, 6 – res130, 7 – res129, 8, 9 – Аврозис, 10 – Аврора, 11 – res128, 12 – res127, 13 – res126, 14 – res122, 15 – res121, 16 – res118, 17 – res117, 18 – res115, 19 – res121.

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18



Рис. 2.23. Електрофоретичні спектри продуктів ампліфікації з праймерами до мікросателітного локусу *Xcfd 64*: 1, 2 – Ювілейна, 3 – Одеська 267, 4 – Селянка, 5, 18 – Ніконія, 6 – res148, 7 – Аврозис, 8 – Аврора, 9 – res146, 10 – res145, 11 – res144, 12 – res143, 13 – res142, 14 – res141, 15 – res140, 16 – res139, 17 – res138.

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19



Рис. 2.24. Електрофоретичні спектри продуктів ампліфікації з праймерами до мікросателітного локусу *Xcfd 141*: 1 – res146, 2 – res135, 3 – res134, 4 – res132, 5 – res131, 6 – res130, 7 – res129, 8 – res128, 9 – res127, 10 – Аврозис, 11 – Аврора, 12 – res126, 13 – res122, 14 – res121, 15 – res118, 16 – res117, 17, 18 – res115, 19 – res139.

За мікросателітним локусом *Xcfd152* (рис. 2.25, табл. 2.9) спектр генотипу Аврора характеризується поодиноким продуктом ампліфікації, від якого не відрізняються продукти ампліфікації 22 інтрогресивні лінії. Спектр Аврозиса представлений двома продуктами ампліфікації, які повторюються у спектрах трьох ліній.

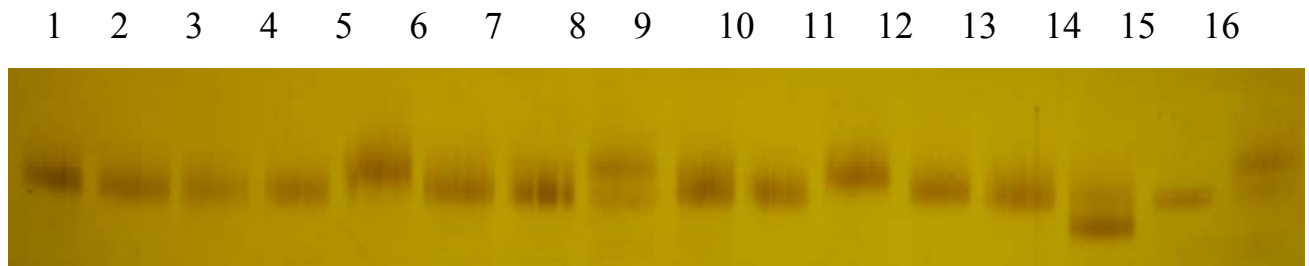


Рис. 2.25. Електрофоретичні спектри продуктів ампліфікації з праймерами до мікросателітного локусу *Xcfd 152*: 1 – res135, 2 – res134, 3 – res132, 4 – res131, 5 – res130, 6 – res129, 7 – res128, 8 – Аврозис, 9 – Аврора, 10 – res127, 11 – res122, 12 – res121, 13 – res118, 14 – res117, 15 – res115, 16 – Аврозис.

За мікросателітним локусом *Xcfd211* (рис. 2.26–2.27, табл. 2.9) від спектру генотипу Аврора не відрізняється спектр жодної з 25 досліджених інтрогресивних ліній. Іншими за рухливістю компонентами спектру характеризуються генотип Аврозису.

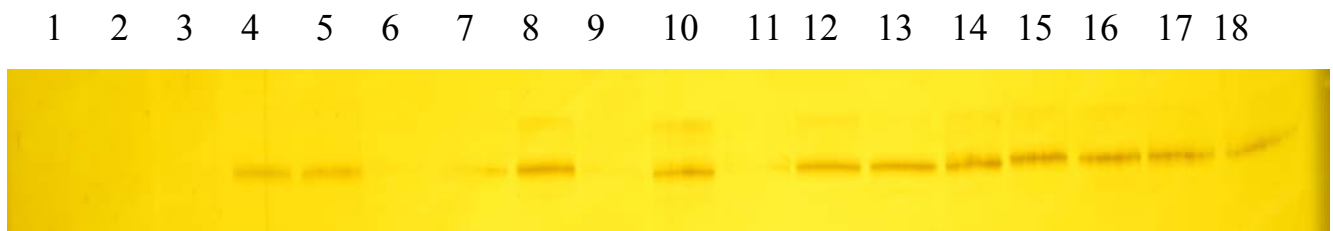


Рис. 2.26. Електрофоретичні спектри продуктів ампліфікації з праймерами до мікросателітного локусу *Xcfd 211*: 1 – Селянка, 2 – Ніконія, 3 – Тіра, 4, 10 – Аврора, 5 – Аврозис, 6 – Подолянка, 7 – Вдала, 8 – Лелека, 11 – Одеська 267, 12 – res148, 13 – res146, 14 – res145, 15 – res144, 16 – res143, 17 – res142, 18 – res135.

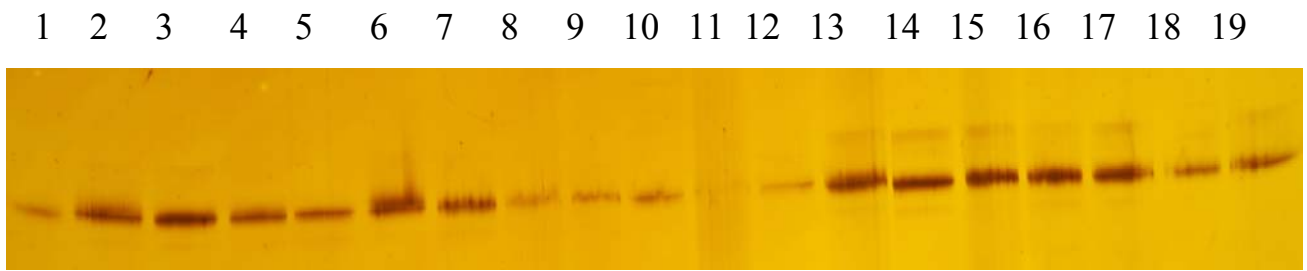


Рис. 2.27. Електрофоретичні спектри продуктів ампліфікації з праймерами до мікросателітного локусу *Xcfd 211*: 1 – res134, 2 – res141, 3 – res140, 4 – res139, 5 – res138, 6 – res137, 7 – res135, 8 – res134, 9 – res132, 10 – Аврора, 12 – res131, 13 – res130, 14 – res129, 15 – res128, 16 – res121, 17 – res118, 18 – res117, 19 – res128.

За мікросателітним локусом *Xcfd223* (рис. 2.28, 2.29, табл. 2.9) від спектру генотипу Аврора відрізняються відсутністю мінорних компонентів спектри десяти інтрогресивних ліній. Спектр Аврозису відрізняється від спектру Аврори наявністю ще одного, більш повільного, мінорного компоненту. Зі спектром генотипу Аврозис співпадають спектри 10-ти інтрогресивних ліній. Нуль-алелів за цим локусом не спостерігали.



Рис. 2.28. Електрофоретичні спектри продуктів ампліфікації з праймерами до мікросателітного локусу *Xcfd 223*: 1–5 – res148, 6 – res146, 7 – Аврозис, 8 – Аврора, 9 – res145, 10 – res144, 11 – res143, 12 – res142, 13 – res141, 14 – res140, 15 – res139, 16 – res138.

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19

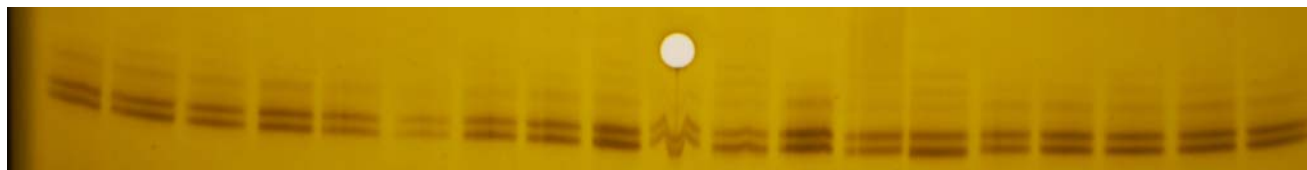


Рис. 2.29. Локус *Xcfd223*: 1 – res138, 2 – res137, 3 – res135, 4 – res134, 5 – res132, 6 – res131, 7 – res130, 8 – res129, 9 – res128, 10 – res127, 11 – Аврозис, 12 – Аврора, 13 – res126, 14 – res122, 15 – res121, 16, 118 – res118, 17 – res117, 18 – res115.

Таблиця 2.9

Результати порівняння спектрів продуктів ампліфікації інтрогресивних ліній
— похідних Аврозису зі спектрами генотипів Аврора та Аврозис

Генотип	Мікросателітні локуси					
	<i>Xcfd55</i>	<i>Xcfd64</i>	<i>Xcfd141</i>	<i>Xcfd152</i>	<i>Xcfd211</i>	<i>Xcfd223</i>
res 115	Авр	Авр	Авр	Авр	Авр	sis
res117	Авр	Авр	Авр	Інший	Авр	sis
res118	Sis/Авр	Авр	Авр	Авр	Авр	sis
res121	Sis/Авр	Авр ²	0	Авр	Авр	Авр
res122	Sis	Авр	Авр	Авр	Авр	sis
res126	Авр	Авр	Авр	Авр	Авр	sis
res127	Sis/Авр	Авр ²	0	Авр	Авр	Авр
res128	Авр	Авр	Авр	Авр	Авр	sis
res129	Sis/Авр	Авр	Авр	Авр	Авр	sis
res130	Sis/Авр	Авр	Авр	Sis	Авр	sis
res131	Sis	Авр	0	Авр	Авр	Авр
res132	Sis	Авр ² sis ²	0	Авр	Авр	Авр
res134	Sis/Авр	Авр ²	Авр	Авр	Авр	Авр
res135	Авр	Авр ²	Авр	Авр	Авр	sis
res137	Авр	Авр	Авр	Авр	Авр	sis

Продовження табл. 2.9						
res138	Sis/Авр	Авр	Авр	Авр	Авр	Авр
res139	Sis/Авр	Авр	Авр	Авр	Авр	Авр
res140	Sis/Авр	Авр	Авр	Авр	Авр	Авр
res141	Авр	Авр	Авр	Авр	Авр	Авр
res142	Авр	Авр	Авр	Авр	Авр	Авр
res143	Авр	Авр	Авр	Авр	Авр	Авр
res144	Авр	Авр	Авр	Авр	Авр	Авр
res145	Авр	Авр	Авр	Авр	Авр	Авр
res146	Sis/Авр	Авр	Авр	Авр	Авр	Авр
res148	Авр	Авр	Авр	Авр	Авр	Авр

Примітки: Авр — рухливість продукта ампліфікації така, яка у продукта ампліфікації генотипу Аврора, Авр² — з двох притаманних генотипу Аврора продуктів ампліфікації у наявності тільки нижній, інший — рухливість продукту ампліфікації відрізняється від рухливості продукта ампліфікації генотипів Аврора та Аврозис, sis — рухливість продукта ампліфікації така, яка продукта ампліфікації генотипу Аврозис, sis/Авр — продуктів ампліфікації два, один за рухливість співпадає з продуктом ампліфікації генотипу Аврора, другий — Аврозису.

Локусами, за якими електрофоретичний спектр стійкої лінії характеризувався наявністю продукту ампліфікації, характерного для генотипу Аврозис за всіма мікросателітними маркерами, які досліджувались, а генотип Аврозису дає спектр продуктів ампліфікації, який відрізняється від спектру Аврори, є *Xcfd55*, *Xcfd64*, *Xcfd141*, *Xcfd152* та *Xcfd223*. Жодна із досліджених ліній цим не характеризувалась, отже жодна з них не є чужинно-заміщеною за 3D/3S¹, що підтверджує результати, отримані раніше із застосуванням біохімічних маркерів [144]. Якщо стійка лінія не є чужинно-заміщеною, ген стійкості входить до складу чужинної транслокації на хромосому пшениці. В цьому випадку лінія за певним мікросателітним локусом може бути схожою як з Аврозисом, якщо до складу геному Аврора

ген стійкості увійшов разом з мікросателітним локусом, так і з Авророю, якщо зчеплення між вказаними локусами під час транслокації було розірвано. До першого типу ліній відносяться лінії: res122 за локусами *Xcfd55* та *Xcfd223*; res 130 за локусами *Xcfd152* та *Xcfd223*; res115, res117, res126, res128, res137 за локусом *Xcfd223*; res118, res129, res130 за локусом *Xcfd223*, а за локусом *Xcfd55* рослини лінії є гетерозиготами; res127 за локусами *Xcfd152*, *Xcfd141* та гетерозигота за локусом *Xcfd55*; res121 за локусом *Xcfd141* та гетерозигота за локусом *Xcfd55*; res131, res 132 за локусом *Xcfd141* та гетерозигота за локусом *Xcfd55*, res 132 відрізняється від генотипу Аврори за локусом *Xcfd64*; res134 є стійкою гетерозиготою за локусом *Xcfd55* та відрізняється від генотипу Аврори за локусом *Xcfd64*; res135 відрізняється від генотипу Аврори за локусом *Xcfd64*; res138, res 139, res140, res146 є стійкими гетерозиготами за локусом *Xcfd55*.

До ліній другого типу, електрофоретичний спектр продуктів ампліфікації в яких не відрізняється від спектру Аврори за всіма мікросателітними локусами, відносяться лінії res141, res142, res143, res144, res145, res148.

Якщо стійка лінія має певний мікросателітний локус за спектром ампліфікації, характерним для генотипу Аврора, а не генотипу Аврозис, вона може використовуватися у якості донора гена стійкості при схрещуванні з такими генотипами м'якої пшениці, які за спектром ампліконів того самого мікросателітного локусу відрізняються від генотипу Аврора. У попередньому дослідженні нами було виявлено низку генотипів сучасних сортів м'якої пшениці, які можуть слугувати реципієнтами при схрещуванні з дослідженими інтрогресивними лініями при створенні популяцій для роботи із ними методом BSA.

2.5. Перевірка ліній з гаметоцидною хромосомою на потенціальну придатність для використання у якості індуктора хромосомних перебудов у геномі пшениці

2.5.1. Обґрунтування доцільності і переваг використання гаметоцидних генів у генетиці пшениці та інших злакових для інтрагресії в геном пшениці чужинного генетичного матеріалу. Залучення чужинних генів до генофонду м'якої пшениці пов'язано перш за все з необхідністю поповнювати запас вертикальних генів стійкості до найбільш розповсюджених хвороб пшениці.. Основна складність цього процесу полягає в тому, що ген стійкості до геному інтрогресивної пшеничної лінії потрапляє у складі цілої чужинної хромосоми чи, в кращому випадку, транслокації чужинного хроматину на пшеничну хромосому. В обох випадках в геном лінії крім гена стійкості потрапляє деякий обсяг чужинного хроматину і це призводить до певних небажаних наслідків: експресії чужинних генів, які супроводжують гени стійкості, хоча й не є ціллю трансгеноза і помітно псують всі властивості пшеничної лінії, які роблять її сортом (продуктивність рослини, якість борошна, легкість обмолоту, висота та міцність стебла тощо), геномного стресу (пояснюється дією будь-яких механізмів епігенетичних змін). Саме тому перенесення генів стійкості від інтрогресивних ліній до м'якої пшениці перш за все впирається у вивчення можливості редукції кількості чужинного хроматину, що включається у геном пшениці. Серед кількох механізмів, які застосовуються для такої редукції є використання гаметоцидних хромосом підтриби *Triticinae* як факторів, що викликають перебудову хромосом у гаметах гібридних рослин, що містять гаметоцидну хромосому [93, 101, 138, 139].

Ендо і Мукаї у 1988 році картували ген Q (speltoid supression gene) методом створення мутантів, які були отримані в результаті схрещування еуплоїдної м'якої пшениці сорту Chinese Spring (♀) з чужинно-доданою

лінією Chinese Spring, яка отримала довге плече хромосоми виду *Aegilops longissima* (донор гаметоцидного гену). С-забарвлення, проведене на хромосомах нащадків трьох із цих мутантів, продемонстрував, що спельтоїдність є асоційованою з делеціями на довгому плечі хромосоми 5A. Розрахунки показали, що ген Q розташований на відстані 46 % від центромери [38].

З використанням гаметоцидної хромосоми *Ae. sharonensis* стало досяжним створення стабільних 44-хромосомних ліній пшениці. Вихідний генетичний матеріал був представлений *T. aestivum* сорту Chinese Spring, а також Chinese Spring 4S¹ і Chinese Spring 1U (U-геному *Ae. umbellulata*) дисомно-доданими лініями. Спочатку було здійснено схрещування між вказаними дисомно-доданими лініями і відібрали потомство з 44-ма хромосомами. Для уникнення хромосомних руйнувань у нащадків лінія з гаметоцидними хромосомами використовувалась як материнська рослина. В результаті була отриманий подвійно-моносомно-додані лінії (42W+ 4S¹ + 1U), в мейозі яких очікувалось формування 21бівалента (пшениця) і двох унівалентів (4S¹ і 1U). Враховуючи можливість випадкових перебудов і розриву унівалентів по центромері, очікували появу у деяких гаметах транслокацій 4S1L/1U. Потім було проведено серію беккросів. В результаті було отримано 3 транслокації, які мали перевагу при успадкуванню. Як наслідок цього, такі лінії виявилися стабільними і хромосоми не втрачалися в ряді поколінь. Тож використання гаметоцидного ефекту в цьому випадку виявилось дієвим і відкрило ще один спосіб включення у пшеницю чужинного генетичного матеріалу для покращення її властивостей [82].

За участі дисомно-доданих ліній пшениці з гаметоцидними хромосомами (Add2C), у геном пшениці було перенесено ген стійкості до фузаріозу (engl. scab) шляхом індукції транслокації з хромосом виду *Leymus racemosus* [159].

Хромосома 3C *Aegilops triuncialis* була також використані також при переносі генів стійкості до очнистої плямистості і жовтої іржі до пшениці із

хромосоми 2V *Haynaldia villosa*. Як вихідний матеріал було використано дисомно-додану лінію з гаметоцидною хромосомою 3C, доданої до пшениці сорту Norin 26 і дисомно-заміщену лінію *T. aestivum*-*H. villosa* 2V(2D), які схрещували між собою, а потім гібрид F1 піддавали самозапиленню. В результаті було отримано лінії, досліджуючи які автори роботи прийшли до висновку, що гаметоцидна хромосома 3 C *Ae. triuncialis* є придатною для використання у генетичних маніпуляціях з хромосомою 2V *H. villosa*, оскільки успішно викликає її структурні зміни [81].

Види *Agropyron*, поширені у холодних і помірних рівнинних місцевостях і в пісках Євразії є носіями Р-геному. Ці види не лише адаптовані до абіотичного стресу, такого, як посуха, низька температура, бідні ґрунти, але також володіють стійкістю до борошнистої іржі, вірусу карликовості ячменю та різних видів іржі, від якої страждає пшениця. Більше того, види роду *Agropyron* характеризуються підвищеною кустистістю, великою кількістю колосків і квіток на колосі. Р-геном *Agropyron* може бути ресурсом генетичного матеріалу для удосконалення пшениці. З метою інтрогресії потрібних генів у 90-х роках ХХ століття було проведено схрещування між видами пшениці і *Agropyron*, в результаті чого було створено пшениця-*Agropyron* хромосомно-додані лінії – матеріал, який зробив можливим перенесення генів з Р-геному у геном пшениці шляхом індукції транслокацій між їх хромосомами.

Саме з цією метою використовувалась гаметоцидна хромосома *Ae. cylindryca* (2C). Хромосомно-додані лінії пшениця-*Agropyron cristatum* були схрещені з доданими лініями Chinese Spring-*Aegilops cylindryca*. В результаті схрещування було виявлено хромосомно-додані лінії, у яких рівень передачі гену інтересу становив 100%. Було зроблено висновок, що ефект гаметоцидної хромосоми залежить від того, яку саме хромосомно-додану лінію пшениця-*Agropyron* було взято у схрещування [46].

Таким чином, перевага при передачі гаметоцидних хромосом має велику кількість потенційно можливих випадків використання у генетиці

пшениці. Серед таких можливостей – продукція гібридів пшениці, стабілізація напівкарликових сортів і продукція стабільних чужинно-доданих ліній. Комерційна сторона передбачає, що технологія з гаметоцидними хромосомами може бути використана для створення високоврожайних сортів. Як показують дослідження, якщо використовувати матеріал з гаметоцидною хромосомою у якості материнської рослини, це захищає руйнування хромосом нащадків від схрещування. Проте, з іншого боку, спостереження явища руйнування хромосом у ендоспермі, навіть у випадку самозапилення рослин $4S^1(4B)$, говорять про те, що враження ендосперму не може бути подолане таким чином [93]. Отже, для введення технології у використання при створенні сортів пшениці, вона повинна бути ще детально відпрацьована, і ключовим моментом у цьому є дослідження властивостей різних гаметоцидних хромосом на різному генетичному фоні.

2.5.2. Вивчення гібридів пшениці, які мають у родоводі хромосому $4S^1$, за насінневою фертильністю. Кожна рослина була охарактеризована за ознакою фертильності. З цією метою підраховувалась кількість колосків у кожної рослини і кількість зерен у цих колосках, а також очікувану кількість зерен в такій кількості колосків. Передбачається, що кожен колосок повинен містити мінімум 2 зерна. Отже, для розрахунку очікуваного кількості колосків множили на два. Після цього знаходили співвідношення реальної кількості зерен до очікуваної, яке використовували як показник фертильності кожної рослини. Отримані результати представлені графічно на рис. 2.31.

Отримані дані оцінки фертильності перевірили на нормальність розподілу.варіант. Значення критерію χ^2 (навести отримане значення) свідчить, що розподіл не є нормальним. Перевірка на асиметрію (розрахунок коефіцієнта асиметрії з урахуванням похибки) показала, що асиметрія виражена і значення коефіцієнту A є статистично достовірним (табл. 2.10).

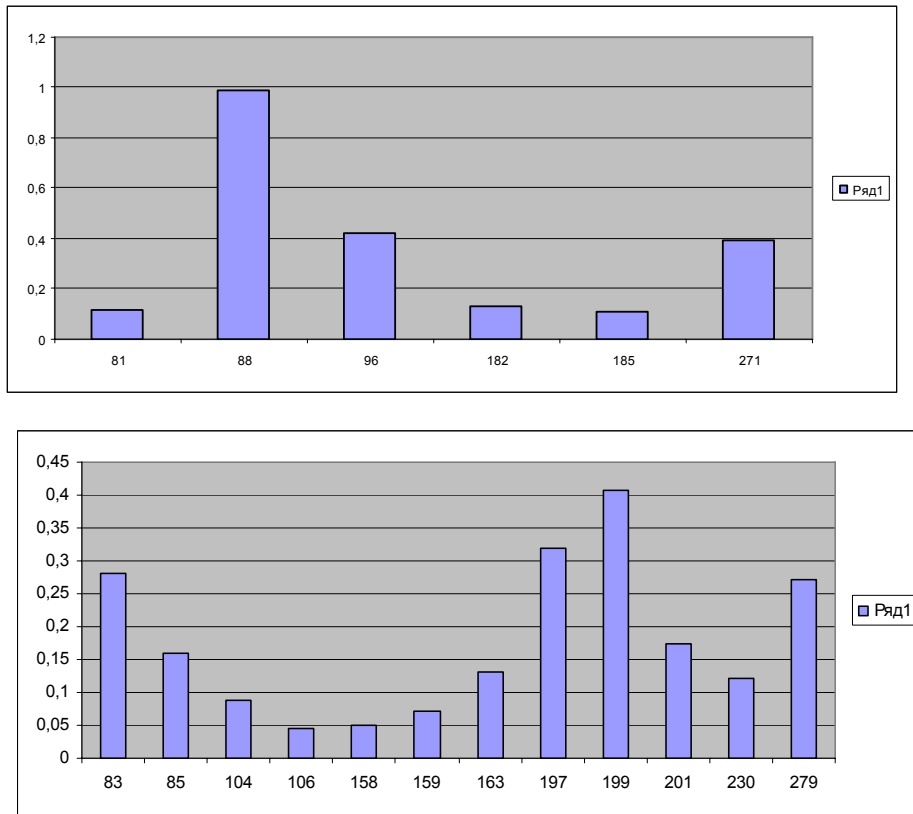


Рис. 2.31. Результати оцінки рослин F_2 за фертильністю. По осі абсцис вказано номери комбінацій схрещування, по осі ординта – оцінка фертильності.

Таблиця 2.10

Перевірка розподілу ознаки фертильність рослин на відповідність нормальному

К ($1+3,32 \cdot \lg(\text{кількість рослин})$)	9,749806	Розрахунок χ^2 для класів (всього 10 класів)		
λ (Максимум-Мінімум/К)	0,232629			
Кількість рослин	432	Емпірична частота	Теоретична частота	Розрахунок χ^2
Максимум	2,268089	127	108,085476	3,309965752
Мінімум	0	168	152,803249	1,511363397
Середнє арифметичне	0,218462	73	98,1875806	6,461247072
Стандартне відхилення	0,26206	28	28,6773653	0,015999511

е	2,72	19	3,80698057	60,63278643
π	3,14	3	0,22971047	33,40946576
		3	0,00629999	1422,580717
		5	7,8534E-05	318323,8317
		4	4,4497E-07	35957242,82
		1	1,146E-09	872632702,9
Сумарне значення		431	391,796741	908909797,5

Для перевірки припущення про залежність фертильності рослин від компонентів схрещування було виконано дисперсійний аналіз для непараметричних ознак. Перевіряли три припущення.

1. Фертильність рослин залежить від присутності або відсутності у одного з батьків гаметоцидної хромосоми 4S^l. 2. Фертильність рослин залежить від того, яке походження мали гібриди F₁, які слугували материнським компонентом схрещування у тих комбінаціях, що насіння F₂ від них ми досліджуємо: у їх походженні брав участь або сорт м'якої пшениці, або інтрогресивна лінія. 3. Чи залежить фертильність від того, який саме сорт або яка саме лінія брали участь в утворенні гібридів F₁.

Для перевірки кожного з припущень було виконано однофакторний дисперсійний аналіз Крускала-Уоллеса для непараметричних ознак з використанням середніх рангів (табл. 2.11, рис. 2.32). За його результатами, не виявлено розбіжностей за фертильністю між групами гібридів, які містили чи не містили хромосому 4S^l (перший рядок табл. 2.11). Низьку фертильність гібридних рослин, як F₁ так і F₂, які несуть хромосому 4S^l, легко пояснити загибеллю частини гамет, що не мають цієї хромосоми. Гібриди другої групи не отримали гаметоцидної хромосоми з боку батьківського компоненту схрещування (друга група гібридів). Проте лінії *T. aestivum/Ae.sharonensis*, які брали участь у їх утворенні, у своєму родоводі мали гібрид AABBDS з хромосомою 4S^l. Отже, наслідки аберантних подій, які мали місце у геномі цього гібриду, діють протягом наступних поколінь навіть серед нащадків, які гаметоцидну хромосому не успадкували. Цей феномен можна назвати загальним терміном геномний стрес.

Перевірка другого припущення показала, що фертильність рослин F_2 не залежить від того, що саме у своєму родоводі, сорт м'якої пшениці чи інтрогресивну лінію, має материнський компонент схрещування, тобто гібрид F_1 (табл. 2.11, третій рядок).

Адекватним виявилось третє припущення. Статистично значущою різницею у фертильності рослин ($p < 0,01$, табл. 2.11 другий рядок) характеризувались гібриди, материнський компонент яких походив від схрещування тільки інтрогресивних ліній (групи 3–5) чи включав у родовід сорти м'якої пшениці (групи 6–7). Гібриди, до родоову яких увійшли сорти м'якої пшениці, характеризувались більш низькою фертильністю. При порівнянні гібридів, які вели походження від схрещування виключно інтрогресивних ліній, без участі сортів м'якої пшениці (групи 8–11) розбіжності між групами виявились також статистично значущими, хоча й на більш низькому рівні. Проте значущість різниць між груповими середніми рангами у цьому варіанті дисперсійного комплексу виявилась максимальною. Найвищою фертильністю характеризується група ліній 8, у походженні якої брали участь інтрогресивні лінії *T. aestivum/Ae.sharonensis*, найнижчою – група ліній 6, в походженні якої обов'язково брали участь лінії *T. aestivum/Ae.umbellulata*. Абсолютні, не рангові, значення фертильності (M_e (медіана) = 0,15 для комплексу у цілому, $M_e = 0,095$ для групи 6 та $M_e = 0,20$ для групи 8) вказують на дуже низький відсоток зав'язування насіння, хоча не було жодної комбінації схрещування, від гібридів F_1 якої нам не вдалося б отримати хоча б кілька насінин.

Отже, підсумовуючи отримані результати можна стверджувати, що фертильність рослин не корелює з присутністю і відсутністю гаметоцидної хромосоми саме у гібридній рослини. Проте участь інтрогресивної лінії з хромосомою 4Sl у походженні гібрида на будь-якому етапі його родоову впливає на формування геному протягом кількох послідовних поколінь. Наслідком цього впливу є зниження фертильності рослин, пов'язаних своїм походженням із інтрогресивною лінією з гаметоцидною хромосомою.

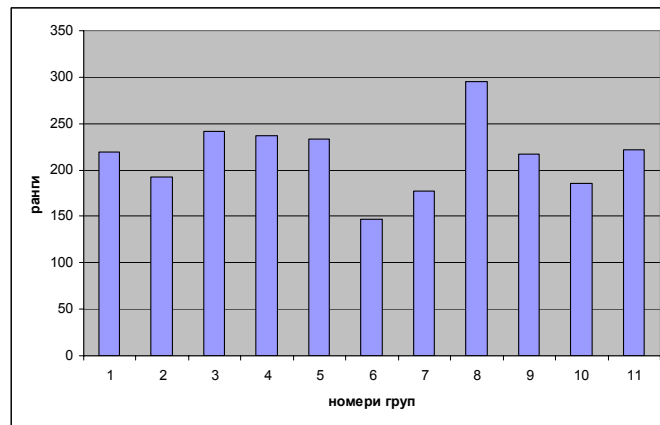


Рис. 2.32. Середні ранги за фертильністю гібридів різного походження: 1 – 4S¹ у геномі присутня, 2 – 4S¹ у геномі відсутня, 3–5 – гібриди F₁ материнського компонента схрещування були утворені за участю тільки інтрогресивних ліній, 6–7 – гібриди F₁ материнського компонента схрещування були утворені за участю сортів м'якої пшениці, 8–11 – в утворенні гібридів F₁ брали участь інтрогресивні лінії різного походження.

Таблиця 2.11

Результати трьох однофакторних непараметричних дисперсійних аналізів.

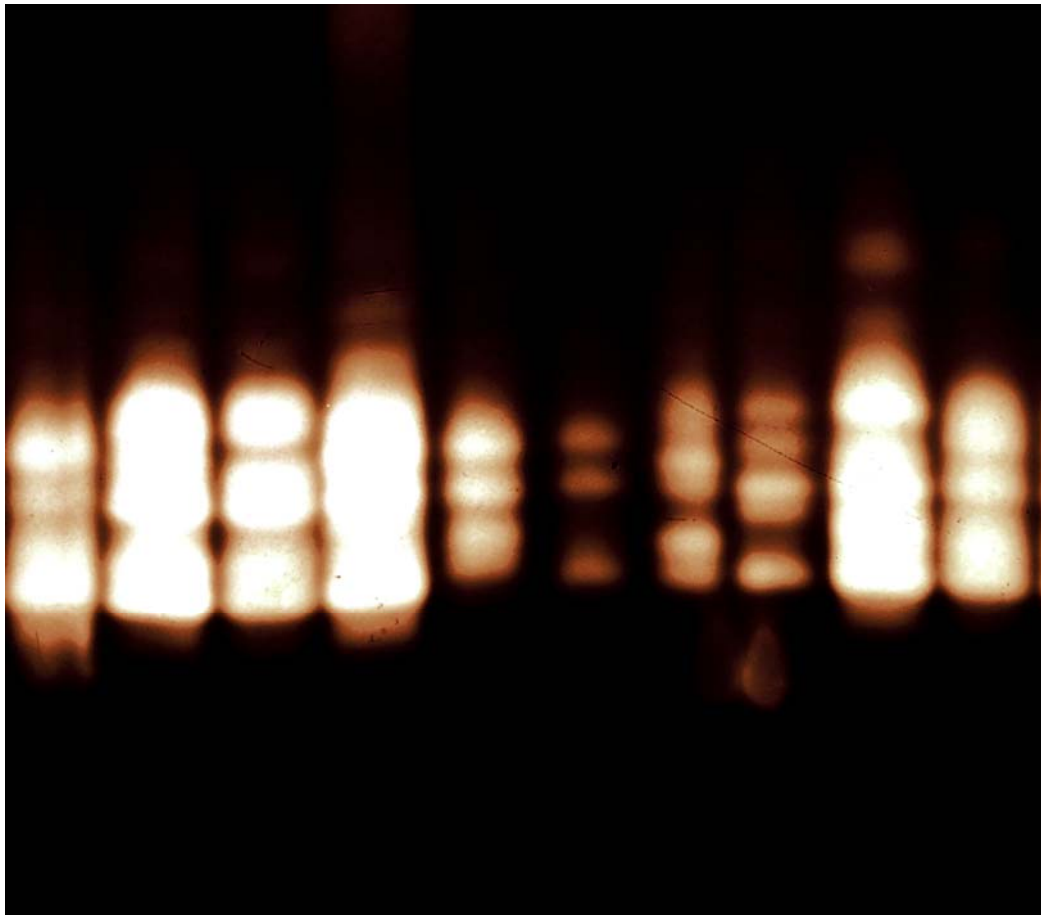
Джерело мінливості в кожному комплексі	D	H	df	P
Наявність гаметоцидної хромосоми	15158,5	3,35	1	>0,05
Природа материнського компонента схрещування	106484	37,71	4	<0,01
Походження інтрогресивних ліній	108735,1	10,85	3	<0,05, >0.01

2.5.3. Результати аналізу електрофоретичного спектру бета-амілази. Для аналізу конституції гібридних рослин F₁, насіння яких від самоzapліднення ми вивчали, використали ген β -Amy-1, алель якого β -Amy-S¹ є маркером наявності хромосоми 4S¹ у присутності алелів β -Amy-D1 сортів м'якої пшениці, зокрема сортів Аврора та Одеська 267. Вивчали нащадків тільки тих гібридів F₁, які запилювались лінією з гаметоцидною хромосомою. Ген бета-амілази розташований на хромосомах 4A, 5A і 4D *T. aestivum* і на 4S¹ *Ae. sharonensis*. Тому за спектром цього ферменту ми достовірно можемо говорити про наявність або відсутність у матеріалі хромосоми егілопеу (рис. 2.33).

Гібриди F₁, які запилювались лінією з гаметоцидною хромосомою, не мали бути одноманітними, оскільки у якості материнського компонента

схрещування для запилення використовували гібриди F_1 від схрещування інтрогресивних ліній, стійких до борошнистої роси та бурої іржі, одна з однією (групи 3–5), чи з сортом м'якої пшениці (групи 6, 7). Проте за геном β -*Amy-1* материнські компоненти всіх схрещувань мали бути β -*Amy-D1* β -*Amy-D1*, оскільки були гібридами між однаковими за цим геном генотипами. Якщо генотип гібридів F_1 , встановлений за насінням F_2 , відхилявся від очікуваного генотипу β -*Amy-D1* β -*Amy-S^L*, результати розщеплення насінин від такого гібрида в даній роботі не враховували.

Серед аналізованого рослинного матеріалу, носіїв хромосом *Ae. sharonensis* нам було важливо виявити рослини, що не несуть хромосоми 4 S^L , чи алель ферменту, який властивий цій хромосомі.

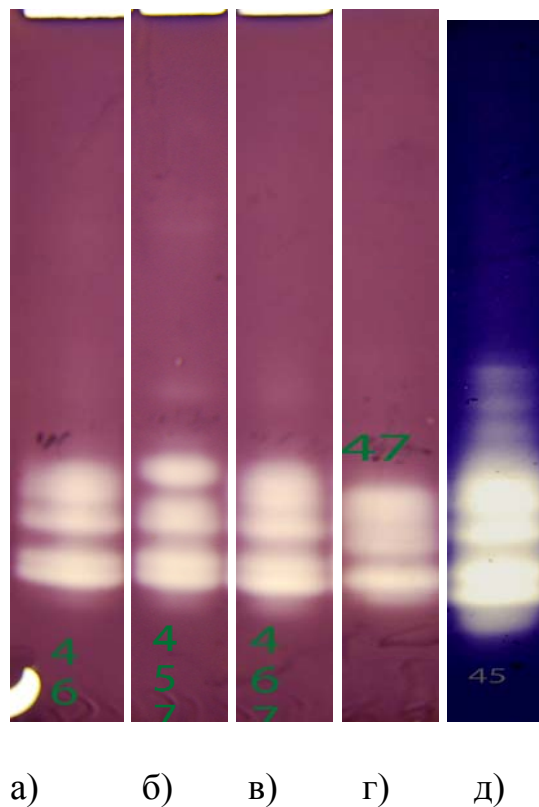


1 2 3 4

Рис. 2.33. Спектр ізозимів бета-амілази у поліакриламідному гелі: 1 – Аврора, 2 – Аврозис, 3, 4 – гібриди F_2 .

На спектрі (рис. 2.33) цифрами 1 та 2 позначено батьківські форми: сорт Аврора та геномно-заміщена форма Аврозис. Спектр Аврозису відрізняється від спектру сорту Аврора у нижній частині, де він не має зон активності, які присутні у спектрах м'якої пшениці і контролюються генами хромосоми 4 D. У зразка №4 — лінії 93/7-5 спостерігається відсутність компоненту спектра, що контролюється хромосомою 4D м'якої пшениці сорту Аврора. Трек №3 має спектр, що не відрізняється від спектру сорту Аврора. За результатами аналізу електрофоретичних спектрів було знайдено паростки рослин, які несуть чужинний матеріал егілопсу, але не мають сегмента гаметоцидної хромосоми 4 S¹, маркером якого є відповідний компонент спектра ізоциму бета-амілази. Варіації частини спектра, яка контролюється хромосомами 4A та 5D, представлені на рис. 2.34, а–д.

На основі аналізу фенотипів було зроблено висновок про генотип кожної рослини F₂ (табл. 2.12, рис. 2.34, 1–3). Вийшло, що проведене схрещування в результаті дало наступні генотипи в різних співвідношеннях: as, as3a, as0, a, a0, 3as, s3a, s. (рис. 2.34).



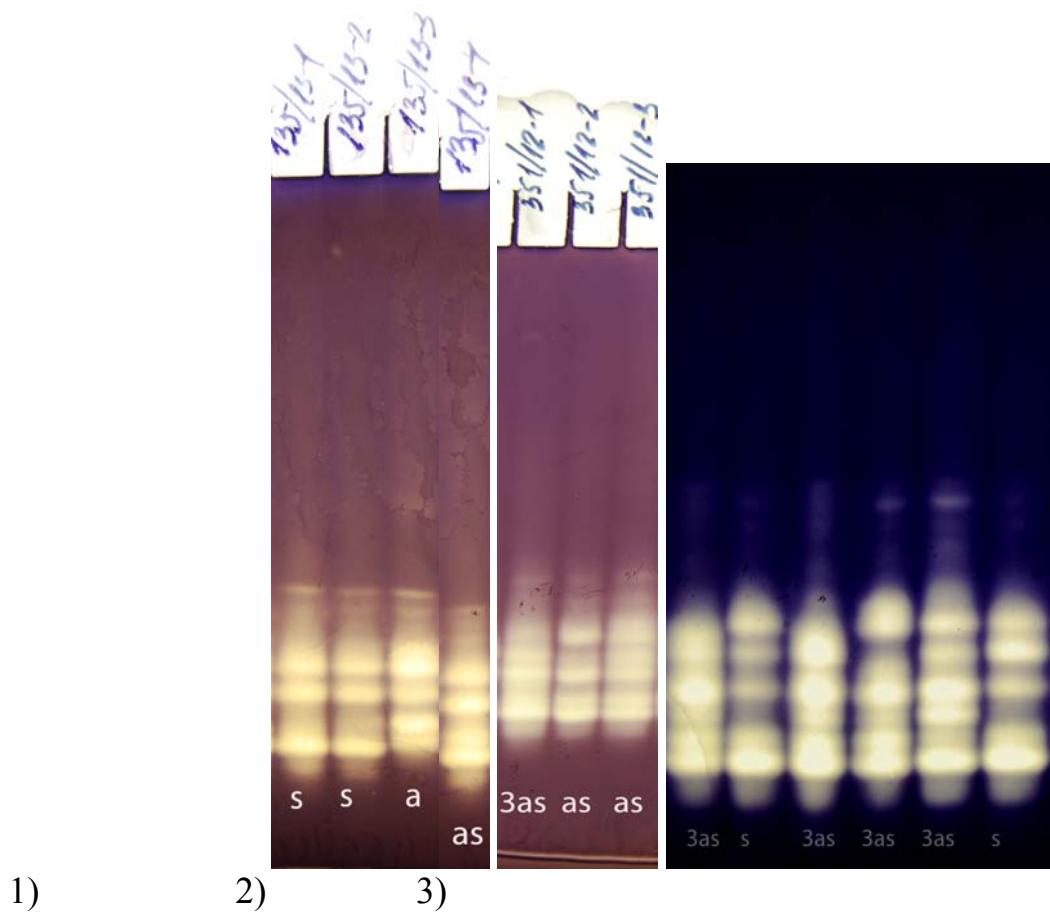


Рис. 2.34. Варіація фенотипів бета-амілази: а) – 46, б) – 457, в) – 467, г) - 47, д)-45. Вигляд електрофореграм за спектром ізозимів бета-амілази рослин із різними генотипами: 1 – рослина з генотипом as, 2 – as3a, 3 – 3as.

Таблиця 2.12

Розщеплення за алелями бета-амілази серед нащадків F_2 від схрещування інтрогресивних ліній одна з однією та сортами м'якої пшениці

Гібрид	кількість зерен	ss	as	aa	3as	a3a	3a	3a0	0	A0
81	19 as	22	67	1						
83	1 as		8							
85	4 as	4	18							
	2 as3a	6	10		3		1			
88	4as	11	29							
96	25 as	45	128	12						
	3 as3a	11	9		9	1				

Продовження табл. 2.12

	2 as0	4	16	4					2	
93	13 as	28	37	2						
	1 as3a	1		1	1					
104	2 as	5	7							
	1 as3a	1	1		2	1				
136	2 as	5	2	2						
	S3a	4	9		3					
	S									
135	5 as	6	21	1						
	2 as0	3	4	1					2	1
134	1 a			10						
	3a0			7				20		
	4 as	14?	15	5						
138	5 as	8	9	1						
	1 a			5						
143	4 as	16	18							
	1 a0		8							1
159	6 as	6	14	0						
	1 3as	1			3					
163	4 as	4	17							
	2 3as	2	4	1	2					
185	3 as	5	12							
	5 3as	10	11		6					
147	3 as	5	16							
	8 3as	12	34	1	15					
271	9 as	16	32	2						
	1 as0		1						6	

Продовження табл. 2.12

301	5 as	9	18	2						
	1 as0	2	3							
292	9 as	19	39	19						
	1 3as	1	7	1						

2.5.4. Встановлення кількості хромосом у паростках, для яких були встановлені генотипи за геном β -*Amy*-D1. Контроль кількості хромосом виявив коливання серед нащадків F_2 від 39 до 45 (табл. 2.13). Серед нащадків різних гібридів спостерігали такі відхилення від нативного генотипу сорту Аврора: пара дицентриків, чотири супутникові хромосоми замість двох, до чотирьох телоцентричних хромосом, дуже маленькі хромосоми, яких не буває у сорту Аврора (рис. 2.35). Результати, наведені у таблиці 2.13, показують, що залежності між розкидом кількості хромосом серед паростків F_2 та участю у походженні гібрида F_1 інтрогресивної лінії з гаметоцидної хромосомою (права колонка) чи без гаметоцидної хромосоми (ліва колонка) не спостерігається. В той же час отримані результати дають змогу припустити, що знижена фертильність рослин F_1 від схрещування інтрогресивних може залежити від цитологічної нестабільності як самих рослин F_1 , так і інтрогресивних ліній, які брали участь у їх походженні.

Таблиця 2.13

Результати підрахунку кількості хромосом у корінцях паростків F_2

номер гібрида	розкид за кількістю хромосом	номер гібрида	розкид за кількістю хромосом
112	39–44	96	42–44
122	40–42	106	39–42
150	41–44	136	42–44
78	39–43	143	40–42
121	40–43	185	42–45



A)



Б)



В)

Рис. 2.35. Метафазні пластинки клітин первинних корінців пшениці. А) 39 хромосом; Б) 41 хромосома, серед них 4 дицентрики; В) 42 хромосоми, серед них 2 телоцентрики.

2.6. Успадкування стійкості до борошнистої роси, яка контролюється генами пшениці Мігушової

2.6.1. Характеристика інтрогресивних ліній, що їхнє походження пов'язане з пшеницею Мігушової, за стійкістю до борошнистої роси. Протягом всього періоду спостереження за пшеницею Мігушової у Київській та Одеської області вона характеризувалась стійкістю до ураження борошнистою росою на рівні 9–8 балів у осінній період та на рівні 7 балів на стадії колосіння. При значній епіфітотії нами спостерігалось незначне ураження листя прикореневої зони. Така оцінка її стійкості співпадає з результатами, отриманими раніше в умовах Краснодару (Північний Кавказ) [4, 6]. Сорти м'якої пшениці, Безоста 1 та Кавказ, що їхній геном слугував реципієнтом чужинного матеріалу від пшениці Мігушової, дуже сильно уражувалися борошнистою росою на усіх етапах оцінки (бал 3–2). Серед гексаплоїдних ліній м'якої пшениці, що беруть своє походження від схрещування сортів м'якої пшениці Безоста 1 чи Кавказ з *T. miguschovae* (лінії mig), отримано лінії, стійкі до борошнистої роси у різному ступені: бал 8 — лінії mig981, mig921, mig555, mig861, mig891, mig933 та бал 7 — лінії mig561, mig812, mig901, mig903, mig805, mig551, mig944, mig806, mig845. Для встановлення характеру успадкування ознаки стійкості до борошнистої роси, виконано низку схрещування між окремими стійкими лініями (табл. 2.15) для перевірки генетичної основи стійкості окремих ліній. Для ліній, показавших рецесивну природу генів стійкості (mig561, mig806, mig845, mig861) отримано гібриди F₁ та F₂ з рекурентним генотипом Кавказ з метою отримати картину розщеплення та встановити кількість генів, що беруть участь у контролі ознаки.

Серед обраних для схрещування 15 стійких ліній п'ять мали високу стійкість (бал 8), решта 10 оцінювались балом 7 і завжди мали ознаки ураження борошнистою росою починаючи зі стадії виходу колоса у трубку, які підсилювалися аж до стадії колосіння. Оскільки вогнища ураження

Таблица 2.14

Оцінка гібридів F₁ від схрещування інтрогресивних ліній одна з однією за стійкістю до борошнистої роси

[illegible]

mig806	4	7	8	8	8	7	7	7	4	7	7	7	–	–
mig933	7	7	8	8	8	7	7	7	7	7	7	7	8	–
mig845	4	8	8	8	7	8	8	7	4	8	7	7	4	8

Таблиця 2.15

Результати гібридологічного аналізу інтрогресивних ліній — похідних пшениці Мігушової за ознакою стійкість до борошнистої роси

Комбінації схрещування	Емпіричний розподіл		Теоретичний розподіл		X ²	P ¹⁾
	Стійких	Спринят- ливих	Стійких	Спринят- ливих		
mig561 x Кавказ	31	102	34	102	0.35	>0.5
mig806 x Кавказ	18	66	21	63	0.57	>0.5
mig845 x Кавказ	30	101	33	98	0.31	>0.5
mig861 x Кавказ	55	183	60	178	0.45	>0.5

¹⁾ Кількість ступенів свободи — 1.

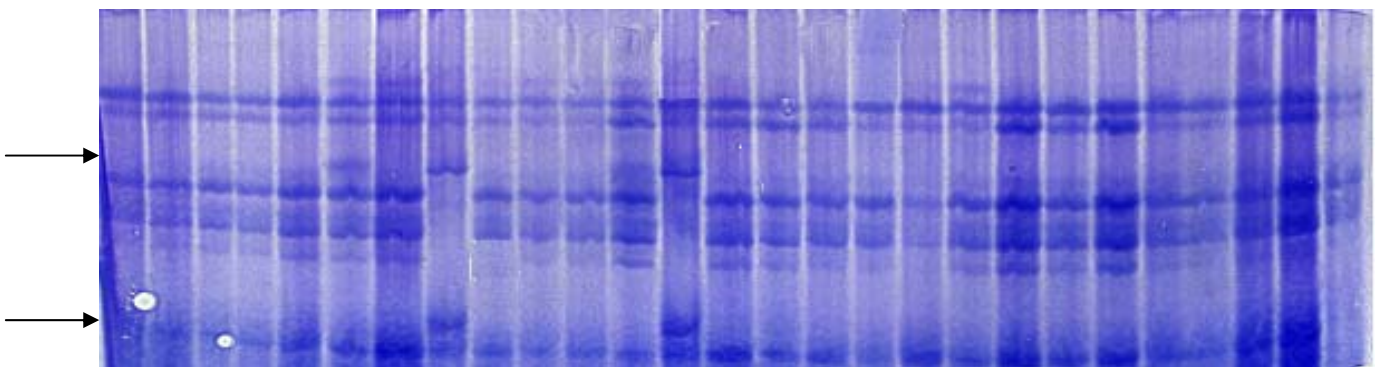
Найбільш придатними для встановлення їх зв'язку з молекулярно-генетичним, зокрема, біохімічним маркером, є рецесивні гени. В цьому випадку не виникає потреби встановлювати генотип рослин F₂ за ознакою, для якої шукаємо маркерний ген, за даними оцінки нащадків F₃ від всіх рослин з домінантним фенотипом, щоб розрізнити гомо- та гетерозиготи за домінантним алелем гена, з яким працюємо.

Серед 15 досліджених нами ліній стійкими до борошнистої роси були всі, оскільки саме за вимогою стійкості до патогену ці лінії було обрано для дослідження. Стійкість ліній характеризується високим та середнім балами (8-7) та стабільністю у генераціях. 10 з цих ліній раніше було піддано схрещуванню з генотипом Кавказ, який відрізняється високою чутливістю до бурої іржі на рівні 3–4 бали. За результатами оцінки гібридних поколінь, 6 скрещувань із 10 продукували гібриди F₁, які за стійкістю до бурої іржі не

відрізнялись від пшениці Мігушової. Чотири гібридних комбінацій від схрещування з генотипом Кавказ ліній mig562, mig806, mig845 та mig861 характеризувались чутливими гібридами F_1 з оцінкою 3–4. Отримані рослини F_2 від цих схрещувань було варто оцінити не тільки за ознакою стійкість до борошнистої роси, а і за біохімічними маркерами *Gli-2*, специфічних до хромосом шостої гомологічної групи пшениці, адже за попередніми спостереженнями серед стійких до борошнистої роси інтрогресивних ліній *T. aestivum*/*T. miguschvae* траплялись лінії з позитивною оцінкою щодо компонентів спектру, притаманних гліадиновому спектру пшениці Мігушової.

Генотип 10 стійких рослин від кожної гібридної комбінації було перевірено у нашому дослідженні за генами, що кодують запасні білки пшениці (табл. 2.16). Ми не ставили за мету ідентифікувати алелі певних генів згідно з загальновідомою номенклатурою. Нам необхідно було виявити ті компоненти, поява яких в гліадиновому спектрі може свідчити про включення відповідного хромосомного матеріалу *T. miguschovae* в геном досліджуваної лінії. Отже такі компоненти можуть бути маркерами чужинного хроматину у геномі м'якої пшениці. Було виявлено 8 мажорних компонентів спектру в ω -дапазоні спектру, які відповідають високомолекулярним гліадинам, та є маркерами короткого плеча першої хромосоми (рис. 2.36).

1 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ↓ ↓ ↓ 11 12 13 14 15 16 17 18 19 19 20 21



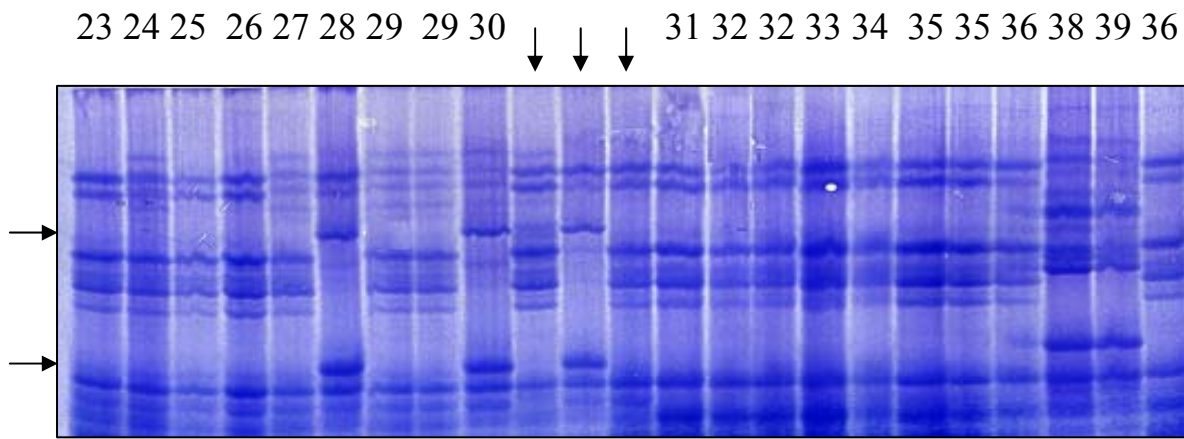


Рис. 2.36. Електрофоретичні спектри гліадинів у ПААГ. Вертикальними стрілками вказано контрольні групи. Зліва направо: *T.aestivum* L. генотип Кавказ, *T. miguschova*, *T.aestivum* L. генотип Аврора. 1–36 спектри гліадинів рослин F₂.

При порівнянні спектрів контрольних зразків, *T. Miguschovae* та нащадків із F₂, що розглядалися, виявлено наявність компонентів спектра, характерних для спектра пшениці Мігушової, у спектрах гібридних нащадків (горизонтальні стрілки). Ймовірно, наявність продукту пов'язана з присутністю в геномі пшениці Мігушової матеріалу D-хромосом від *Ae. tauschii*. Таблиця 2.16

Генотипи рослин за генами запасних білків, стійких до ураження бурюю іржею, у F₂ від схрещування стійких ліній *T aestivum*/*T. miguschovae* з генотипом Кавказ

Номер рослини, для якої встановлено генотип	Генотип за генами запасних білків ¹⁾		
	<i>Glu</i>	<i>Gli1</i>	<i>Gli2</i>
1633/13	A ^k B ^k D ^m	B ^k D ^m	A ^k B ^k D ^k
1633/15	A ^k B ^m	B ^k D ^m	A ^k B ^k D ^k
1633/36	A ^k B ^k (D ^m D ^k)	B ^k (D ^m D ^k)	A ^k B ^k D ^k
1633/37	A ^k B ^k (D ^m D ^k)	B ^k (D ^m D ^k)	A ^k B ^k D ^k
1633/82	A ^k B ^k D ^m	B ^k (D ^m D ^k)	A ^k B ^k D ^k
1633/94	A ^k B ^k (D ^m D ^k)	B ^k D ^m	A ^k B ^k D ^k

Продовження табл. 2.16

1633/111	$A^k B^k D^m$	$B^k D^m$	$A^k B^k D^k$
1633/121	$A^k B^k D^m$	$B^k D^m$	$A^k B^k D^k$
1633/134	$A^k B^k D^m$	$B^k D^m$	$A^k B^k D^k$
1633/135	$A^k B^k D^m$	$B^k D^m$	$A^k B^k D^k$
1637/4	$A^k B^k D^m$	$B^k D^m$	$A^k B^k D^k$
1637/22	$A^k B^k (D^m D^k)$	$B^k (D^m D^k)$	$A^k B^k D^k$
1637/33	$A^k B^k D^m$	$B^k D^m$	$A^k B^k D^k$
1637/39	$A^k B^k D^m$	$B^k D^m$	$A^k B^k D^k$
1637/40	$A^k B^k D^m$	$B^k D^m$	$A^k B^k D^k$
1637/54	$A^k B^k D^k$	$B^k D^m$	$A^k B^k D^k$
1637/71	$A^k B^k D^m$	$B^k (D^m D^k)$	$A^k B^k D^k$
1637/72	$A^k B^k D^m$	$B^k D^m$	$A^k B^k D^k$
1637/73	$A^k B^k (D^m D^k)$	$B^k D^m$	$A^k B^k D^k$
1637/84	$A^k B^k D^m$	$B^k D^m$	$A^k B^k D^k$
1670/5	$A^k B^k D^m$	$B^k D^m$	$A^k B^k (D^m D^k)$
1670/7	$A^k B^k D^m$	$B^k D^m$	$A^k B^k D^k$
1670/11	$A^k B^k D^m$	$B^k D^m$	$A^k B^k (D^m D^k)$
1670/21	$A^k B^k (D^m D^k)$	$B^k (D^m D^k)$	$A^k B^k D^k$
1670/28	$A^k B^k D^m$	$B^k D^m$	$A^k B^k (D^m D^k)$
1670/39	$A^k B^k D^m$	$B^k D^m$	$A^k B^k (D^m D^k)$
1670/59	$A^k B^k D^m$	$B^k D^m$	$A^k B^k D^k$
1670/87	$A^k B^k D^m$	$B^k D^m$	$A^k B^k (D^m D^k)$
1670/114	$A^k B^k D^m$	$B^k D^m$	$A^k B^k D^m$
1670/122	$A^k B^k D^m$	$B^k D^m$	$A^k B^k D^m$
1672/44	$A^k B^k D^m$	$B^k D^m$	$A^k B^k D^k$
1672/52	$A^k B^k D^m$	$B^k D^m$	$A^k B^k D^k$
1672/67	$A^k B^k D^m$	$B^k D^m$	$A^k B^k D^k$
1672/6/	$A^k B^k (D^m D^k)$	$B^k (D^m D^k)$	$A^k B^k D^k$

Продовження табл. 2.16

1672/69	$A^k B^k D^m$	$B^k (D^m D^k)$	$A^k B^k D^k$
1672/124	$A^k B^k D^m$	$B^k D^m$	$A^k B^k D^k$
1672/134	$A^k B^k D^m$	$B^k D^m$	$A^k B^k D^k$
1672/187	$A^k B^k D^m$	$B^k D^m$	$A^k B^k D^k$
1672/191	$A^k B^k D^m$	$B^k D^m$	$A^k B^k D^k$
1672/215	$A^k B^k D^m$	$B^k (D^m D^k)$	$A^k B^k D^k$

Примітки ¹⁾ 1633 — комбінація mig561 x Кавказ, 1637 – mig806 x Кавказ, 1670 – mig845 x Кавказ, 1672 – mig861 x Кавказ; ²⁾ Алель гена позначається умовно, тільки як наявність маркерного компонента спектра, якій є характерним для одного з батьківських компонентів схрещування, наприклад: A^k – рослина за відповідним геном характеризується як носій маркерного компонента, властивого генотипу Кавказ, D^m – маркерного компоненту, властивого пшениці Мігушової.

Результати оцінки стійких рослин F_2 від схрещування чотирьох ліній, які беруть походження від схрещування м'якої пшениці з пшеницею Мігушової (табл. 2.16) не виявили жодного випадку відмінності електрофоретичних спектрів запасних білків за маркерними компонентами, що кодуються генами *Gli1*, *Gli2* та *Glu*, локалізованих у геномах А та В від спектру, притаманному генотипу Кавказ. За генами запасних білків, локалізованими у геномі D виявлено дві особливості. По-перше, всі перевірені стійкі рослини мали маркерні компоненти, які контролюються генами *Gli2* *T. miguschovae*, переважно у гомозиготному стані, у декількох випадках — у гетерозиготному. По-друге, серед нащадків одного схрещування, (mig 845 x Кавказ) F_2 , спостерігали розщеплення за геном *Gli2*: половина рослин були гетерозиготами за наявністю маркерних компонентів, властивих батьківським компонентам схрещування, дві рослини були гомозиготами за маркерними компонентами гена *Gli2*, які характеризують спектр пшениці Мігушової. Результати перевірки гіпотези про зв'язок гена, що кодує стійкість рослин до бурої іржі, та генів *GluD* та *GliD1*, показало, що кількості

фенотипних класів з різними компонентами спектра серед стійких до борошнистої роси рослин F_2 складають 0 (D^kD^k), 9 (D^kD^m), 31 (D^mD^m), що статистично значуще ($\chi^2 = 60,15$ при $df = 2$) відрізняється від теоретично очікуваного співвідношення 1 : 2 : 1, відповідно.

Результати показують, що маркерні компоненти, що характеризують електрофоретичний спектр гліадинів пшениці Мігушової, передаються нащадкам разом з рецесивним геном стійкості до борошнистої роси. Це дає змогу припустити, що ген стійкості розташований у хромосомі 6D пшениці Мігушової, отриманій цим синтетичним видом від донора субгенома D, *Ae. tauschii* vsr. *strangulate*. Зважаючи на результати нашого дослідження слід вважати, що між хромосомами геномів D м'якої пшениці та дикорослого виду егілопса відбувається кон'югація хромосом. Це дає можливість нормального розходження хромосом по полюсах мейоцита та не заважає рекомбінації генетичного матеріалу між геномами різних видів, що є особливо важливим та цінним у дослідженнях щодо віддаленої гібридизації пшениці.

2.7. Обговорення результатів

В ході виконання цього наукового проекту інтрогресивні лінії, що походять від схрещування сорту м'якої пшениці Аврора та геномно-заміщених форм Авродес, Авролата, Аврозис, а також лінії, що походять від пшениці Мігушової, яка містить чужинні геноми A^b та G , були проаналізовані за допомогою біохімічних маркерів щодо хромосомної локалізації інтрогресивного генетичного матеріалу, а також з використанням мікросателітних маркерів, специфічних до певних хромосом пшениці – щодо плечової локалізації генів, що контролюють стійкість інтрогресивних ліній до збудника борошнистої роси пшениці.

Огляд літературних джерел показує, що численні дикорослі види пшениці, в тому числі ті, які задіяні у нашій роботі, є джерелом багатьох агрономічно корисних ознак для пшениці. Досліджувані інтрогресивні лінії є стійкими до борошнистої роси. Отже, у складі інтрогресованого генетичного матеріалу має міститися ген стійкості до борошнистої роси, що походить від чужинних видів.

Для ідентифікації чужинного генетичного матеріалу у світовій практиці перш за все використовуються біохімічні маркери, оскільки ці гени є маркерними для певних хромосом злаків і, таким чином, можуть використовуватися для хромосомної локалізації інтрогресивного гена у складі генома досліджуваних ліній. У останні кілька років більш інтенсивно застосовуються молекулярно-генетичні маркери, в тому числі SSR-маркери, як такі, що мають високу щільність розташування на хромосомах, що робить їх надзвичайно перспективними для подальшого картування генів інтересу на хромосомах.

За допомогою аналізу спектрів ізоферментів альфа-амілази було виявлено лінії, що мають інтрогресію від *Ae. speltoides* у складі довгих плечей хромосом шостої гомеологічної групи (лінії 2, 5, 7, 13, 23, 40, 72, 76 і 87). Використовуючи аналіз спектрів запасних білків зерна пшениці (гліадинів та

глютенінів) виявлено лінії, що мають інтрогресії від *Ae. speltoides* у складі коротких плечей першої гомеологічної групи (лінії 22, 23, 45, 54, 55, 57, 59 і 63) та довгих плечей першої гомеологічної групи (лінії 10, 35, 57, 70). У складі хромосом 4AL, 5AL і 4DL не виявлено інтрогресій від *Ae. speltoides* (у спектрі ізоферментів бета-амілази всіх досліджуваних ліній відсутній компонент, що є маркерним щодо присутності локуса β -Amy-1 від *Ae. speltoides*).

У складі електрофоретичних спектрів багатьох досліджуваних ліній було виявлено компоненти невідомого походження, які відсутні у спектрах обох батьківських форм. Інтрогресивні лінії, що нами вивчалися, походять від схрещування геномно-заміщена форма х Аврора з наступними 1-2 беккросами з сортом Аврора та тривалим самозапиленням. Процес формування геномів ліній включає зміни хромосом як за рахунок рекомбінацій, так і за рахунок транслокацій. Природним є припущення про появу нових, не притаманних вихідним батьківським формам, алелів у геномі ліній. Для того, щоб встановити на яких хромосомах, 1A, 1B чи 1D, локалізуються ці нові алелі, потрібно провести схрещування відповідних ліній з сортом Аврора та аналіз особин з генерацій, які розщеплюються.

Було встановлено присутність генетичного матеріалу, що походить від *Ae. speltoides*, у складі довгих плечей хромосом першої гомеологічної групи та шостої групи хромосом деяких ліній. Для більш точної локалізації гена стійкості до борошнистої роси, що перенесений від виду *Ae. speltoides* до геному інтрогресивних ліній, надалі будуть використовуватися мікросателітні маркери для відповідних хромосом.

Той набір білків, електрофоретичні спектри яких ми досліджували, давав змогу візуалізувати 5 з 7 гомеологічних груп хромосом (крім 2-ї та 5-ї). Оцінку ліній за низкою морфологічних ознак, що знаходяться під контролем генів з відомою хромосомною локалізацією, також було застосовано для ідентифікації належності чужинного генетичного матеріалу, з яким пов'язана стійкість рослин до грибних захворювань, певній

гомеологічній групі хромосом. Співставлення усіх даних оцінки дало змогу нам зробити деякі припущення про хромосомну локалізацію генів, що беруть участь у забезпеченні пшеничних ліній стійкістю до трьох грибних захворювань.

Серед стійких ліній, що вивчалися, виявилось тільки дві, що не відрізнялися від сорту Аврора за морфологічними або біохімічними ознаками. Отже, обсяг чужинного генетичного матеріалу, у складі якого в м'яку пшеницю передано ген (гени) стійкості до грибних захворювань, лишається великим і вимагає виконання спеціальних заходів, спрямованих на скорочення чужинного генетичного матеріалу в геномі м'якої пшениці.

Виходячи з накопиченого до цього часу в світі досвіду з ідентифікації генів *Pm* [96], можна припустити, що види егілопсу захищені не надто великимим числом генів стійкості. Однак жодних доказів цього припущення ми не маємо. Тому виникла необхідність досліджувати стійкі лінії на ідентичність генів стійкості, які є у стійких лініях, що і було зроблено у даному дослідженні. Було встановлено, що всі лінії – похідні Аврозису, мають один і той самий, домінантний, ген стійкості до захворювання. Судячі з характеру успадкування та дії цього гена він відноситься до класу *R*-генів. При подальшому використанні ліній з метою генетичного аналізу цілком необхідно, а у якості донора гену стійкості у селекційній роботі дуже бажано мати інформацію про те, у якій хромосомі і у якому обсязі генетичного матеріалу (ціла хромосома, плече, ділянка плеча) розташовано ген стійкості в конкретній лінії. Першим кроком у такому дослідженні стало тестування ліній на подібність за характером чужинного включення генетичного матеріалу, для чого вивчали мейоз гібридів F_1 від схрещування стійких ліній одна з одною. Нами встановлено, що цей ген переданий до геному інтрогресивних ліній пшениці у складі транслокації на коротке (у частині ліній) та на довге (у інших ліній) плече хромосоми 3D. Структура геному інтрогресивних ліній була встановлена з використанням результатів вивчення мейотичних конфігурацій хромосом у $M1$ мейозу МКП гібридів F_1 від

схрещування інтрогресивних ліній з рекурентним генотипом пшениці Аврора. Природно було припустити, що відсутність унівалентів в М1 мейозу є наслідком попарної кон'югації всіх хромосом, тобто повної гомології хромосом ліній, що схрещуються. Тому всі такі лінії ми об'єднуємо у одну групу за ознакою наявності чужинного матеріалу, вважаючи, що вони мають однакову хромосомну конституцію стосовно характеру чужинного включення.

Для зменшення обсягу чужинного хроматина, у складі якого потрапляє до реципієнтного геному ген стійкості, у світі використовують кілька методів. Всі вони спрямовані на ініціювання рекомбінації чужинного і хазаїського хроматину під час проходження мейозу в гібридних рослин. Нами вивчається питання про можливість використання гаметоцидної хромосоми 4S¹ егілопса Шарона у якості індуктора такої рекомбінації. Перш за все було потрібно встановити, чи придатна ця хромосома, відома як така з дуже міцним гаметоцидним ефектом, для створення гібридів, які дадуть фертильних нащадків. Ми досліджували, який саме з компонентів схрещування впливає на фертильність гібридів, зокрема нас цікавив той факт, чи впливає на нього присутність гаметоцидної хромосоми. В результаті виконаної роботи не було виявлено розбіжностей за фертильністю між групами гібридів, які містили чи не містили хромосому 4S¹. Проте статистично значущою різницею у фертильності ($p < 0,01$) характеризувались гібриди, материнський компонент яких походив від схрещування тільки інтрогресивних ліній чи включав у родовід сорти м'якої пшениці, при чому у випадку участі у схрещуванні сортів м'якої пшениці фертильність була більш низькою. Натомість, нащадки від схрещування за участю інтрагресивних ліній показати вищу фертильність, при чому між різними інтрагресивними лініями також виявилась статистично достовірна різниця у фертильності (хоч і на більш низькому рівні).

Результати дослідження свідчать, що на фертильність гібридів з гаметоцидною хромосомою впливає природа перш за все другого

компоненту схрещування. Вплив генетичного фону на гаметоцидний ефект різних генів не є неочікуваним результатом, у раніше опублікованих джерелах також відмічається подібне явище. Löve, вивчаючи можливість передачі генетичного матеріалу від *Agropyron* до пшениці, використовував різні хромосомно-додані лінії пшениця-*Agropyron*, а для викликання розривів хромосом – додані лінії пшениці з хромосомою 2C *Aegilops cylindryca* і помітив, що ефект гаметоцидної хромосоми 2C залежить від того, яка саме лінія пшениця-*Agropyron* була використана. В цьому випадку генетичний фон впливає на прояв гаметоцидної дії [101]. Крім того, на сьогодні вже відкриті супресори для гаметоцидних хромосом, носіями яких є певні сорти пшениці. Тобто при створенні моносомно-доданих ліній пшениць одного визначеного сорту з гаметоцидною хромосомою егілопсу ця хромосома не проявляє свого гаметоцидного ефекту, в той час як у моносоміків з інших сортів цей ефект є яскраво вираженим. Отже, коли ми говоримо про ген-супресор, відіграє роль сорт пшениці [159].

Цікаві дані отримані про асоціацію хромосомних аберації і стерильності рослин [139]. Було висловлено припущення, що саме руйнування хромосом є причиною стерильності. Проте є результати, які свідчать про те, що руйнування хромосом і напівстерильність рослин не завжди асоційовані. Так, наприклад, рослини CS-Gc1 і CS-3C показували невелику кількість хромосомних аберацій, але високу стерильність, як чоловічу, так і жіночу, в той час, коли F₁ N26 і CS+3C3C показували високу частоту аберацій і, водночас, нормальну фертильність. Це дозволяє робити припущення, що стерильність викликана чимось іншим ніж руйнування хромосом [159]. До того ж, при вивченні поведінка хромосом під час мітозу у корінцях рослин, які містять хромосому 4 S^l, було зроблено висновок, що хромосомні аберації у цих рослин статистично не відрізняються від появи таких у мітозах корінців еуплоїдної пшениці [101]. Таким чином наш висновок про можливість використання гаметоцидної хромосоми 4S^l у якості індуктора хромосомних перебудов знаходять підтвердження у результатах

інших дослідників, хоча є певні зостереження щодо використання цієї хромосоми. Так, у своєму дослідженні 1991 року Кінг отримав результати, які повністю підтверджували перевагу при передачі хромосоми 4 S¹ *Ae. sharonensis*. Це виявлялося у тому, що винятково гамети, які містили хромосому 4S¹ передавались наступній генерації. Частота передачі хромосоми 4S¹ через як жіночі, так і чоловічі гамети у моносомному стані на різному генетичному фоні становила 97,8 %. Причиною цьому на той час було названо руйнування хромосом у гаметах без 4S¹, появу в них окремих сегментів хромосом, викликане гаметоцидною хромосомою *Ae. sharonensis* [139].

За нашими результатами, як наслідок гаметоцидної дії хромосоми 4S¹ серед гамет, які формують гібриди F₁, насіннєвих нащадків яких ми досліджуємо, в утворенні нащадків F₂ мали брати переважну участь гамети, які містять хромосому 4S¹, маркером якої в нашому дослідженні є алель β -*Amy-S¹*. За таких умов очікувалось, що емпіричне співвідношення відхилитиметься від теоретично очікуваного 1:2:1 у бік збільшення гомозигот β -*Amy-S¹* β -*Amy-S¹* проти гетерозигот β -*Amy-S¹* β -*Amy-D1* та гомозигот β -*Amy-D1* β -*Amy-D1*. Проте отримані результати показали, що для низки комбінацій ми маємо надлишок гетерозигот *Amy-S¹* β -*Amy-D1* проти обох типів гомозигот. Така особливість розподілу може бути пояснена тільки стабільною гетерозиготністю одного з компонентів схрещування. Стабільна гетерозиготність лінії, яка брала участь у походженні вказаних гібридів, за геном *Amy-1* могла виникнути в процесі її створення в результаті перебудови геному за рахунок утворення транслокованих хромосом.

За результатами досліджень, які проводились раніше, хромосома 4S¹ відносилася до хромосом із сильною гаметоцидною дією. Для створення ліній, придатних для генетичних маніпуляцій з усього відомого набору гаметоцидних генів використовувались переважно гени, розташовані на хромосомах 2C і 3C егілопсів *Ae. cylindryca* і *Ae. triuncialis*, оскільки їх дія на геном вважається більш м'якою і не чинить суттєвого впливу на

фертильність. Дані даного дослідження говорять про те, що гаметоцидний ген *Ae. sharonensis* 4S¹ також може використовуватись у таких цілях як, зокрема, інтрогресія чужинного матеріалу до геному пшениці. Проте, слід враховувати вплив на геном гаметоцидного гену, ефект якого не зникає у ряді поколінь – геномний стрес.

Подальша розробка питання може полягати в тому, щоб дослідити материнський компонент схрещування, представлений інтрогресивними лініями, порівняти їх між собою, виявити, які є найоптимальнішими і найбільш вдалим для того, щоб на основі них створювати хромосомно-додані лінії з гаметоцидними хромосомами, придатні до генетичних маніпуляцій з інтрогресії чужинного матеріалу до складу геному пшениці. Необхідними є подальші дослідження механізму дії гаметоцидної хромосоми 4 S¹ для пояснення отриманих результатів і для можливості прогнозування її поведінки при спадкуванні і при включенні у чужий геном.

ВИСНОВКИ

1. Лінії 2, 5, 7, 13, 23, 40, 72, 76 і 87 мають у складі довгих плечей хромосом шостої гомеологічної групи інтрогресію від *Ae. speltoides*. У складі хромосом 4AL, 5AL і 4DL за допомогою використання ізоферментів бета-амілази як біохімічних маркерів не виявлено інтрогресій від *Ae. speltoides*. Лінії 10, 35, 57, 70 мають інтрогресію від *Ae. speltoides* у складі довгих плечей першої гомеологічної групи хромосом. Лінії 22, 23, 45, 54, 55, 57, 59 і 63 мають інтрогресію від *Ae. speltoides* у складі коротких плечей хромосом першої гомеологічної групи.

2. Гени стійкості до борошнистої роси, перенесені до інтрогресивних ліній від виду *Ae. speltoides*, локалізовані на довгому плечі хромосом шостої гомеологічної групи або у складі хромосом першої гомеологічної групи.

3. Ген стійкості до борошнистої роси, *R*-класу перенесений до інтрогресивних ліній від виду *Ae. sharonensis* у складі транслокації 3S¹.3DS 3S¹.3DL.

4. Гени стійкості до борошнистої роси, перенесений до інтрогресивних ліній, пов'язаних своїм походженням з пшеницею Мігушової, входять до складу транслокацій або рекомбінантних фрагментів чужинного хроматина, якій належить хромосомам 3A^b, 3D^m 6D^m пшениці Мігушової.

5. Поліморфізм 12 генотипів м'якої пшениці відносно генотипу Аврора та геномно-заміщених форм Аврозис, Авролата, Авродес за 6 мікросателітними локусами виявився достатнім для добору серед наявних гібридних комбінацій схрещування між інтрогресивними лініями м'якої пшениці, стійкими до борошнистої роси, та сучасними генотипами м'якої пшениці селекції інститутів України таких комбінацій, для роботи з нащадками сегрегуючих популяцій яких можна використовувати метод BSA з одним з досліджених мікросателітних локусів.

6. Знайдено генотипи м'якої пшениці, які можуть використовуватися у якості генотипів-реципієнтів при схрещуванні з інтрогресивними лініями

м'якої пшениці, стійкість яких до борошнистої роси пов'язана з інтрогресією від трьох видів егілопсу.

7. Фертильність рослин, які мають у своєму родоводі лінію з гаметоцидною хромосомою $4S^1$, не залежить від наявності або відсутності у батьківському компоненті схрещування гаметоцидної хромосоми у випадку, коли лінії з $4S^1$ брали участь у походженні материнського компоненту. Вища фертильність рослин виявляє F_2 , які є нащадками гібридів F_1 від схрещування ліній з гаметоцидною хромосомою і інтрогресивних ліній.

8. Результати дослідження електрофоретичного спектру бета-амілази показали, що гаметоцидна хромосома в дослідженому матеріалі не проявляє вираженої переваги при спадкуванні. Стійка гетерозиготність лінії, що брала участь у походженні матеріалу F_2 , провокує підвищення відносної кількості гетерозигот у складі популяції, яка розщеплюється.

9. Наявність хромосомних аберацій навіть у нащадків, геном яких не отримав гаметоцидного компоненту говорить про індукцію гаметоцидними генами геномного стресу, який проявляється у наступних поколіннях.

10. Гібриди від схрещування ліній м'якої пшениці з інтрогресіями від різних видів егілопсу та пирію з інтрогресивними лініями *T. aestivum/Ae.sharonensis*, що містять гаметоцидну хромосому $4S^1$, продукують при самоzapilenні життєздатних нащадків без хромосоми $4S^1$. Це може бути використано для індукції хромосомних перебудов у інтрогресивних гібридів.

Список цитованої літератури

1. Антонюк М.З. Идентификация блоков электрофоретических компонентов запасных белков, кодируемых генами трех видов эгилопса / М.З. Антонюк, Т.К. Терновская, А.А. Созинов // Физиология и биохимия культурных растений. — 1994. — Т. 26, N 5. — С. 474–481.
2. Антонюк М.З. Изоферменты бета- и альфа-амилазы для идентификации генетического материала трех видов *Aegilops*, включенного в геном мягкой пшеницы / М.З. Антонюк, Т.К. Терновская // Цитология и генетика. — 1995. — Т. 29, № 2. — С. 3–8.
3. Глянц С. Медико-биологическая статистика. — М.: Практика. — 460 с.
4. Давоян Р.О. Передача генов устойчивости к листовой ржавчине от *Triticum militinae* Zuk. и *Aegilops speltoides* Tausch. в геном мягкой пшеницы через синтетические гексаплоиды *T.miguschovae* и Авродес: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Санкт-Петербург, 1993. — 28 с.
5. Жиров Е.Г. Геномная инженерия у пшеницы / Е.Г. Жиров, Т.К. Терновская // Вестник с.-х. науки. — 1984. — N 10. — С. 58–66.
6. Жиров Е.Г. Геномы пшеницы: исследование и перестройка: дис. ... докт. биол. наук. Краснодар: НИИ сельского хозяйства им.П.П.Лукьяненко, 1989. — 366 с.
7. Жиров Е.Г. Передача пшенице *Triticum aestivum* L. хромосомы *Aegilops sharonensis* Eig., придающей ей устойчивость к мучнистой росе / Е.Г. Жиров, Т.К. Терновская // Генетика. — 1993. — Т. 29, N 4. — С. 639–645.
8. Лакин Г.Ф. Биометрия.— М.: Высшая школа. — 1990. — 352 с.
9. Методы селекции и оценки устойчивости пшеницы и ячменя к болезням в странах-членах СЭВ. — Прага, 1988.
10. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. М.: Агропромиздат.— 1988.— 271 с.

11. Рокицкий П.Ф. Биометрическая статистика / Минск: Высшая школа.— 1973.— 318 с.
12. Adonina I.G. The study of introgressive lines of *Triticum aestivum* by *in situ* and SSR analysis / I.G. Adonina, E.A. Salina, T.T. Efremova // Plant Breeding. — 2004. — Vol. 123. — P. 220–224.
13. Anikster Y. Resistance to leaf rust, stripe rust, and stem rust in *Aegilops* spp. in Israel / Y. Anikster, J. Manisterski, D. L. Long, K. J. Leonard // Plant Dis. — 2005. — Vol. 89. — P. 303–308.
14. Bansal U.K. Inheritance of leaf rust resistance in wheat lines carrying *Aegilops speltoides* Tausch. translocation in Chinese Spring background / U.K. Bansal, R.G. Saini, R. Khanna // Journal of Applied Genetics. — 2008. — Vol. 49, № 2. — P. 141–145.
15. Benbouza H. Optimization of a reliable, fast, cheap and sensitive silver staining method to detect SSR markers in polyacrylamide gels / H. Benbouza, J.-M. Jacquemin, J.-P. Baudoin // Biotechnology, Agronomy, Society and Environment — 2006. — Vol. 10. — P. 77–81.
16. Bennett F.G.A. Resistance to powdery mildew in wheat: a review of its use in agriculture and breeding programmes / F.G.A. Bennett // Plant Pathol. — 1984. — Vol. 33. — P. 279–300.
17. Bhat R.A. Recruitment and interaction dynamics of plant penetration resistance components in a plasma membrane microdomain / R.A. Bhat, M. Miklis, E. Schmelzer, P. Schulze-Lefert, R. Panstruga // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2005. — Vol. 102. — P. 3135–3140.
18. Bowen K.L. Reduction in yield of winter wheat in North Carolina due to powdery mildew and leaf rust / K.L. Bowen, K.L. Everts, S. Leath // Phytopathology. — 1991. — Vol. 81. — P. 503–511.
19. Brueggeman R. The barley stem rust-resistance gene *Rpg1* is a novel disease-resistance gene with homology to receptor kinases / R. Brueggeman, N. Rostoks, D. Kudrna, A. Kilian, F. Han, J. Chen, A. Druka, B. Steffenson, A. Kleinhofs // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2002. — Vol. 99. — P. 9328–9333.

20. Büschges R. The barley *Mlo* gene: A novel control element of plant pathogen resistance / R. Büschges, K. Hollricher, R. Panstruga, G. Simons, M. Wolter, A. Frijters, R. van Daelen, T. van der Lee, P. Diergaarde, J. Groenendijk, S. Töpsch, P. Vos, F. Salamini, P. Schulze-Lefert // *Cell*. — 1997. — Vol. 88. — P. 695–705.
21. Cenci A. Identification of molecular markers linked to *Pm13*, an *Aegilops longissima* gene conferring resistance to powdery mildew in wheat / A. Cenci, R. D'Ovidio, O.A. Tanzarella, C. Ceoloni, E. Porceddu // *Theor. Appl. Genet.* — 1999. — Vol. 98. — P. 448–454.
22. Ceoloni C. Locating the alien chromatin segment in common wheat-*Aegilops longissima* mildew resistance transfers / C. Ceoloni, G. Del Signore, L. Ercoli, P. Donini // *Hereditas*. — 1992. — Vol. 116. — P. 239–245.
23. Chantret N. Location and mapping of the powdery mildew resistance gene *MIRE* and detection of a resistance QTL by bulked segregant analysis (BSA) with microsatellites in wheat / N. Chantret, P. Sourdille, M. Roder, M. Tavaud, M. Bernard, G. Doussinault // *Theor. Appl. Genet.* — 2000. — Vol. 100. — P. 1217–1224.
24. Chantret N. A major QTL for powdery mildew resistance is stable over time and at two development stages in winter wheat / N. Chantret, D. Mingeot, P. Sourdille, M. Bernard, J.M. Jacquemin, G. Doussinault // *Theor. Appl. Genet.* — 2001. — Vol. 103. — P. 962–971.
25. Chen P.D. Development and molecular cytogenetic analysis of wheat-*Haynaldia villosa* 6VS/6AL translocation lines specifying resistance to powdery mildew / P.D. Chen, L.L. Qi, B. Zhou, S.Z. Zhang, D.J. Liu // *Theor. Appl. Genet.* — 1995. — Vol. 91. — P. 1125–1129.
26. Cherukuri D.P. Molecular Mapping of *Aegilops speltoides* derived leaf rust resistance gene *Lr28* in wheat // D.P. Cherukuri, S.K. Gupta, A. Charpe // *Euphytica*. — 2005. — Vol. 143. — P. 19–26.
27. Conner R.L. Impact of powdery mildew on the yield of soft white spring wheat cultivars / R.L. Conner, A.D. Kuzyk, H. Su // *Can. J. Plant Sci.* — 2003. — Vol. 83. — P. 725–728.

- 28.Daamen R.A. Assessment of the profile of powdery mildew and its damage function at low disease intensities in field experiments with winter wheat / R.A. Daamen // Neth. J. Pl. Pathol. —1989. — Vol. 95. — P. 85–105.
- 29.Dangl J.L. Plant pathogens and integrated defence responses to infection / J.L. Dangl, J.D. Jones // Nature. — Vol. 411. — 2001. — P. 826–833.
- 30.Devos K.M. Updating the ‘Crop Circle’/ K.M. Devos // Curr. Opin. Plant. Biol. — 2005. — Vol. 8. — P. 155–162.
- 31.Devoto A. Topology, subcellular localization, and sequence diversity of the *Mlo* family in plants / A. Devoto, P. Piffanelli, I. Nillsson, E. Wallin, R. Panstruga, G. von Heijne, P. Schulze-Lefert // J. Biol. Chem. — 1999. — Vol. 274. — P. 34993–35004.
- 32.Devoto A. Molecular phylogeny and evolution of the plant-specific seven-transmembrane MLO family / A. Devoto, A.H. Hartmann, P.H. Piffanelli, C.H. Elliott, C.H. Simmons, G.H. Taramino, C.S. Goh, F.E. Cohen, B.C. Emerson, P.C. Schulze-Lefert, R.C. Panstruga // J. Mol. Evol. — 2003. — Vol. 56. — P. 77– 88.
- 33.Distelfeld A. Microcolinearity between a 2-cM region encompassing the grain protein content locus Gpc-6B1 on wheat chromosome 6B and a 350-kb region on rice chromosome 2 / A. Distelfeld, C. Uauy, S. Olmos, A.R. Schlatter, J. Dubcovsky, T. Fahima // Funct. Integr. Genom. — 2004. — Vol. 4. — P. 59–66.
- 34.Donini P. Cytogenetic andmolecular mapping of the wheat-*Aegilops longissima* chromatin breakpointsin powdery mildew-resistant introgression lines / P. Donini, R.M.D.Koebner, C. Ceoloni / Theor. Appl. Genet. — 1995. — Vol. 91.— P. 738–743.
- 35.Dundas I.S. Rust resistance in *Aegilops speltoides* var. *ligustica* / I.S. Dundas, D.C. Verlin, R.F. Park // Materials from 11th International Wheat Genetics Symposium. – Sydney University Press. — 2008. — Vol. 3. — P. 235–247.
- 36.Elliott C. Functional conservation of wheat and rice Mlo orthologs in defense modulation to the powdery mildew fungus / C. Elliott, F. Zhou,

- W. Spielmeyer, R. Panstruga, P. Schulze-Lefert // Mol. Plant Microbe. Int. — 2002. — Vol. 15. — P. 1069–1077.
37. Elliott C. Conserved extracellular cysteine residues and cytoplasmic loop-loop interplay are required for functionality of the heptahelical MLO protein / C. Elliott, J. Müller, M. Miklis, R.A. Bhat, P. Schulze-Lefert, R. Panstruga // Biochem. J. — 2005. — Vol. 385. — P. 243–250.
38. Endo T. R. The deletion stocks of common wheat / T.R. Endo, B.S. Gill // The Journal of Heredity. — 1996. — Vol. 87, N 4. — P. 295–307.
39. Faris J.D. Saturation mapping of a gene-rich recombination hot spot region in wheat / J.D. Faris, K.M. Haen, B.S. Gill // Genetics. — 2000. — Vol. 154. — P. 823–835.
40. Feng G.U. Identification of RAPD Marker linked to powdery mildew resistance gene *Pm12* in wheat / G.U. Feng, Q. Zhang, X. Guo // Journal of Shandong Agricultural University. — 2004. — Vol. 35, № 2. — P. 159–163.
41. Feuillet C. Mapbased isolation of the leaf rust disease resistance gene *Lr10* from the hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) genome / C. Feuillet, S. Travella, N. Stein, L. Albar, A. Nublat, B. Keller // Proc. Natl Acad. Sci. USA. — 2003. — Vol. 100. — P. 15253–15258.
42. Francia E. Marker assisted selection in crop plants / E. Francia, G. Tacconi, C. Crosatti // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. — 2005. — Vol. 82. — P. 317–342.
43. Friebe B. Cytogenetically monitored transfer of powdery mildew resistance from rye to wheat / B. Friebe, M. Heun, N. Tuleen, F.J. Zeller, B.S. Gill // Crop Sci. — 1994. — Vol. 34. — P. 621–625.
44. Friebe B. Characterization of wheat-alien translocations conferring resistance to diseases and pests: Current status / B. Friebe, J. Jiang, W. J. Raupp, R. A. McIntosh, B. S. Gill // Euphytica. — 1996. — Vol. 91. — P. 59–87.
45. Friebe B. Development of a complete set of *Triticum aestivum*-*Aegilops speltoides* chromosome addition lines / B. Friebe, L.L. Qi, S. Nasuda // Theoretical and Applied Genetics. — 2000. — Vol. 101. — P. 51–58.

46. Friebe B. Characterization of a knock-out mutation at the Gc2 locus in wheat. / B. Friebe, P. Zhang, S. Nasuda, B.S. Gill // *Chromosoma*. — 2003. — Vol. 111. — P. 509–517.
47. Gill B.S. Evaluation of *Aegilops* species for resistance to wheat powdery mildew, wheat leaf rust, Hessian fly and greenbug / B.S. Gill, H.C. Sharma, W.J. Raupp, L.E. Browder, J.H. Hatchett, T.L. Harvey, J.G. Moseman, J.G. Waines // *Plant Dis*. — 1985. — Vol. 69. — P. 314–316.
48. Gill K.S. Identification and high-density mapping of gene-rich regions in chromosome group 5 of wheat / K.S. Gill, B.S. Gill, T.R. Endo, E.V. Boyko // *Genetics*. — 1996. — Vol. 143. — P. 1001–1012.
49. Gill K.S. Identification and high-density mapping of gene-rich regions in chromosome group 1 of wheat / K.S. Gill, B.S. Gill, T.R. Endo, T. Taylor // *Genetics*. — 1996. — Vol. 144. — P. 1883–1891.
50. Gold J. Development of molecular marker for rust resistance genes *Sr39* and *Lr35* in wheat breeding lines / J. Gold, D. Harder, F. Townley-Smith // *Electronic Journal of Biotechnology*. — 1999. — Vol. 2, №1. — P. 1–6.
51. Griffey C.A Inheritance of adult-plant resistance to powdery mildew in Knox 62 and Massey winter wheats / C.A. Griffey, M.K. Das // *Crop Sci*. — 1994. — Vol. 34. — P. 641–646.
52. Hartl L. Use of RFLP markers for the identification of alleles of the *Pm3* locus conferring powdery mildew resistance in wheat (*Triticum aestivum* L.) / L. Hartl, H. Weiss, F.J. Zeller, A. Jahoor // *Theor. Appl. Genet*. — 1993. — Vol. 86. — P. 959–963.
53. Hartl L. Molecular identification of powdery mildew resistance genes in common wheat (*Triticum aestivum* L.) / L. Hartl, H. Weiss, U. Stephan, F.J. Zeller, A. Jahoor // *Theor. Appl. Genet*. — 1995. — Vol. 90. — P. 601–606.
54. He R. Inheritance and mapping of powdery mildew resistance gene *Pm43* introgressed from *Thinopyrum intermedium* into wheat / R. He, Z. Chang, Z. Yang, Z. Yuan, H. Zhan, X. Zhang, J. Liu // *Theor. Appl. Genet*. — 2009. — Vol. 118. — P. 1173–1180.

55. Helguera M. PCR Markers for *Triticum speltoides* leaf rust resistance gene *Lr51* and their use to develop isogenic hard red spring wheat lines / M. Helguera, L. Valzetti, M. Soria // Crop Science. — 2005. — Vol. 45. — P. 728–734.
56. Heun M. Virulence frequencies influenced by host resistance in the host-pathogen system wheat powdery mildew / Heun M. // J. Phytopathol. — 1987. — Vol. 118. — P. 363–366.
57. Hirt H. Connecting oxidative stress, auxin, and cell cycle regulation through a plant mitogen-activated protein kinase pathway / H. Hirt // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2000. — Vol. 97. — P. 2405–2407.
58. Hsam S.L.K. Chromosomal location of genes for resistance to powdery mildew in common wheat (*Triticum aestivum* L. em. Thell.). 5. Alleles at the *Pm1* locus / S.L.K. Hsam, X.Q. Huang, F. Ernst, L. Hartl, F.J. Zeller // Theor. Appl. Genet. — 1998. — Vol. 96. — P. 1129–1134.
59. Hsam S.L.K. Chromosomal location of genes for resistance to powdery mildew in common wheat (*Triticum aestivum* L. em. Thell.). 6. Alleles at the *Pm5* locus. / S.L.K. Hsam, X.Q. Huang, F.J. Zeller // Theor. Appl. Genet. — 2001. — Vol. 102. — P. 127–133.
60. Hsam S.L.K. Breeding for powdery mildew resistance in common wheat (*Triticum aestivum* L.) / S.L.K. Hsam, F.J. Zeller // The Powdery Mildews. A Comprehensive Treatise. R.R. Belanger, W.R. Bushnell, A.J. Dik, T.L.W. Carver, eds. American Phytopathological Society, St. Paul, MN. — 2002. — P. 219–238.
61. Hsam S.L.K. Chromosomal location of genes for resistance to powdery mildew in common wheat (*Triticum aestivum* L. em Thell.). 8. Gene *Pm32* in a wheat-*Aegilops speltoides* translocation line // S.L.K. Hsam, I.F. Lapochkina, F.J. Zeller // Euphytica. — 2003. — Vol. 133. — P. 367–370.
62. Hua W. Identification and genetic mapping of a new recessive powdery mildew resistance gene *Pm42* in wheat derived from wild emmer (*Triticum turgidum* var. *dicoccoides*) / W. Hua, Z. Liu, J. Zhu, C. Xie, T. Yang, Y. Zhou,

- X. Duan, Q. Sun, Z. Liu // Theor. Appl. Genet. — 2009. — Vol. 119. — P. 223–230.
63. Huang, X.Q. Identification of powdery mildew resistance genes in common wheat (*Triticum aestivum* L. em Thell). 9. Cultivars, land races and breeding lines grown in China / X.Q. Huang, S.L.K. Hsam, F. J. Zeller // Plant Breed. — 1997. — Vol. 116. — P. 233–238.
64. Huang L. Mapbased cloning of leaf rust resistance gene *Lr21* from the large and polyploid genome of bread wheat / L. Huang, S.A. Brooks, W. Li, J.P. Fellers, H.N. Trick, B.S. Gill // Genetics. — 2003. Vol. 164. — P. 655–664.
65. Huang X.Q. Microsatellite mapping of the powdery mildew resistance gene *Pm5e* in common wheat (*Triticum aestivum* L.) / X.Q. Huang, L.X. Wang, M.X. Xu, M.S. Röder // Theor. Appl. Genet. — 2003. — Vol. 106. — P. 858–865.
66. Huang X.Q. Molecular Mapping of Powdery Mildew Resistance Genes in Wheat: A Review / X.-Q. Huang, S.M. Röder // Euphytica. — 2004. — Vol. 137. — P. 203–223.
67. Huang X.Q. Genetic mapping of three alleles at the *Pm3* locus conferring powdery mildew resistance in common wheat (*Triticum aestivum* L.) / X.Q. Huang, S.L. Hsam, V. Mohler, M.S. Roder, F.J. Zeller // Genome. — 2004. — Vol. 47. — P. 1130–1136.
68. Hulbert S.H. Resistance gene complexes: Evolution and utilization / S.H. Hulbert, C.A. Webb, S.M. Smith, Q. Sun // Annu Rev Phytopathol. — 2001. — Vol. 39. — P. 285–312.
69. Hysing S.-C. Genetic resources for disease resistance breeding in wheat: characterization and utilization. doctoral thesis / S.-C. Hysing // Acta Universitatis Agriculturae Sueciae. — 2007. — Vol. 9.— P. 7–18.
70. Jana S. RNA interference: potential therapeutic targets / S. Jana, C. Chakraborty, S. Nandi, J.K. Deb // Appl. Microbiol. Biol. — 2006 — Vol. 65. — P. 649–657..

71. James W.C. An illustrated series of assessment keys for plant diseases, their preparation and usage / W.C. James. // Can. Plant Dis. Surv.. — 1971. — Vol. 51. — P. 39–65
72. Jarve K. Chromosomal location of a *Triticum timopheevii* – derived powdery mildew resistance gene transferred to common wheat / K. Jarve, H.O. Peusha, J. Tsymbalova, S. Tamm, K.M. Devos, T.M. Enno // Genome. — 2000. — Vol. 43. — P. 377–381.
73. Jia J. RFLP-based maps of the homoeologous group-6 chromosomes of wheat and their application in the tagging of *Pm12*, a powdery mildew resistance gene transferred from *Aegilops speltoides* to wheat / J. Jia, K.M. Devos, S. Chao, T.E. Miller, S.M. Reader, M.D. Gale // Theor Appl Genet. — 1996. — Vol. 92. — P. 559–565.
74. Johnson J.W. Effects of powdery mildew on yield and quality of isogenic lines of 'Chancellor' wheat / J.W. Johnson, P.S. Bänziger, W.T. Yamazaki, R.T. Smith // Crop Sci. — 1979. — Vol. 19. P. 349–352.
75. Jones D.A. Isolation of the tomato *Cf-9* gene for resistance to *Cladosporium fulvum* by transposon tagging / D.A. Jones, C.M. Thomas, K.E. Hammond-Kosack, P.J. Balint-Kurti, J.D. Jones // Science. — 1994. — Vol. 266. — P. 789–793.
76. Jones S.S. Use of alien genes for the development of disease resistance in wheat / S.S. Jones, T.D. Murray, R.E. Allan // Annu. Rev. Phytopathol. — 1995. — Vol. 33. — P. 429–443.
77. Keller M. Quantitative trait loci for resistance against powdery mildew in a segregating wheat x spelt population / M. Keller, B. Keller, G. Schachermayr, M. Winzeler, J.E. Schmid, P. Stamp, M.M. Messmer, // Theor. Appl. Genet. — 1999. — Vol. 98. — P. 903–912.
78. Keller B. Map-based isolation of disease resistance genes from bread wheat: cloning in a supersize genome / B. Keller, C. Feuillet, N. Yahiaoui // Genet. Res. Camb. — 2005. — Vol. 85. — P. 93–100.
79. Kihara H. Wheat studies. Retrospect and prospect. — 1982.— Kodansha LTD, Tokyo. — 310 p.

80. Kim M.C. Calmodulin interacts with MLO protein to regulate defence against mildew in barley / M.C. Kim, R. Panstruga, C. Elliott, J. Müller, A. Devoto, H.W. Yoon, H.C. Park, M.J. Cho, P. Schulze-Lefert / *Nature*. — 2002. — Vol. 416. — P. 447–450.
81. King I.P. Exploitation of chromosome 4S', from *Aegilops sharonensis*, for the production of stable 44-chromosome wheat lines / I.P. King, K.A. Purdie, T.E. Miller // *Heredity*. — 1992. — Vol. 69. — P. 160–165.
82. King I.P. Chromosome damage in early embryo and endosperm development in crosses involving the preferentially transmitted 4S' chromosome of *Aegilops sharonensis* / I.P. King, D.A. Laurie // *Heredity*. — 1993. — N 70. — P. 52–59.
83. Kosambi D.D. 1944. The estimation of map distances from recombination values / D.D. Kosambi // *Ann. Eugen.* — 1944. — Vol. 12. — P. 172–175.
84. Kuraparthi V. Characterization and mapping of cryptic alien introgression from *Aegilops geniculata* with new leaf rust and stripe rust resistance genes *Lr57* and *Yr40* in wheat / V. Kuraparthi, P. Chhuneja, H.S. Dhaliwal, S. Kaur, R.L. Bowden, B.S. Gill // *Theor. Appl. Genet.* — 2007. — Vol. 114 P. 1379–1389.
85. Lander E.S. MapMaker: An interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations / E.S. Lander, P. Green, J. Abrahamson, A. Barlow, M.J. Daly, S.E. Lincoln, L. Newburn // *Genomics*. — 1987. — Vol. 1. — P. 174–181.
86. Leath S. Virulence genes of the wheat powdery mildew fungus *Erysiphe graminis* f. sp. *tritici*, in North Carolina / S. Leath, J.P. Murphy // *Plant Dis.* — 1985. — Vol. 69. — P. 905–912.
87. Leath S. Effects of powdery mildew, triadimenol seed treatment, and triadimefon foliar sprays on yield of winter wheat in North Carolina / S. Leath, K.L. Bowen // *Phytopathology*. — 1989. — Vol. 79. — P. 152–158.
88. Leath S. Identification of powdery mildew resistance genes in cultivars of soft red winter wheat / S. Leath, M. Heun // *Plant. Dis.* — 1990. — Vol. 74. — P. 747–752.

- 89.Lillemo M. The adult plant rust resistance loci *Lr34/Yr18* and *Lr46/Yr29* are important determinants of partial resistance to powdery mildew in bread wheat line Saar / M. Lillemo, B. Asalf, R.P. Singh, J. Huerta-Espino, X.M. Chen, Z.H. He, Å. Bjørnstad // Theor. Appl. Genet. —2008. — Vol. 116. —P. 1155–1166.
- 90.Liu Z.Y. Molecular characterization of a novel powdery mildew resistance gene *Pm30* in wheat originating from wild emmer / Z.Y. Liu, Q.X. Sun, Z.F. Ni, E. Nevo, T.M. Yang // Euphytica. — 2002. — Vol. 123. — P. 21–29.
- 91.Luo M. Gene expression profiling related to powdery mildew resistance in wheat with the method of suppression subtractive hybridization / M. Luo, X. Kong, N. Huo, R. Zhou, J. Jia // Chinese Sci. Bull. — 2002. — Vol. 47. — P. 1990–1994.
- 92.Ma Z.Q. RFLP markers linked to powdery mildew resistance genes *Pm1*, *Pm2*, *Pm3*, and *Pm4* in wheat / Z.Q. Ma, M.E. Sorrells, S.D. Tanksley // Genome. — 1994. — Vol. 37. — P. 871–875.
- 93.Marais G. F. Preferential transmission in bread wheat of a chromosome segment derived from *Thinopyrum distichum* (Thunb.) / G.F. Marais // Acta Agronomica Sinica. — 2007. — Vol. 33 — P. 898–902.
- 94.Martin G.B. Understanding the functions of plant disease resistance proteins / G.B. Martin, A.J. Bogdanove, G. // Sessa Annu. Rev. Plant Biol. —2003. — Vol. 54. — P. 23–61.
- 95.McHale L. Plant NBS-LRR proteins: adaptable guards / L. McHale, X. Tan, P. Koehl, R.W. Michelmore // Genome Biol. — 2006. — Vol. 7. — P. 212–219.
- 96.McIntosh R.A. Catalogue of gene symbols for wheat. <http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/symbol>
- 97.Michelmore R. Molecular approaches to manipulation of disease resistance genes / Michelmore R.// Annu. Rev. Phytopathol. — 1995. — Vol. 15. — P. 393–427.
- 98.Miklis M. Barley MLO modulates actin-dependent and actin-independent antifungal defense pathways at the cell periphery / M. Miklis, C. Consonni,

- R.A. Bhat, V. Lipka, P. Schulze-Lefert, R. Panstruga // *Plant Physiol.* — 2007. — Vol. 144. — P. 1132–1143.
99. Miranda L.M. *Pm34*: a new powdery mildew resistance gene transferred from *Aegilops tauschii* Coss. to common wheat (*Triticum aestivum* L.) / L.M. Miranda, J.P. Murphy, D. Marshall // *Theoretical and Applied Genetics.* — 2006. — Vol. 113. — P. 1497–1504.
100. Moseman J.G. Resistance of *Triticum dicoccoides* to infection with *Erysiphe graminis tritici* / J.G. Moseman, E. Nevo, M.A. Morshidy, D. Zohary // *Euphytica.* — 1984. — Vol. 33. P. 41–47.
101. Nasuda S. Gametocidal genes induce chromosome breakage in the interphase prior to the first mitotic cell division of the male gametophyte in wheat / S. Nasuda, B. Friebe, B.S. Gill // *Wheat Genetics.* — June 1998. — Vol. 149. — P. 1115–1124.
102. Nematollahi G. Microsatellite mapping of powdery mildew resistance allele *Pm5d* from common wheat line IGVI-455 / G. Nematollahi, V. Mohler, G. Wenzel, F.J. Zeller, S.L.K. Hsam // *Euphytica.* — 2008. — Vol. 159. — P. 307–313.
103. Niewoehner A.S. Virulence of *Blumeria graminis f. sp. tritici* on winter wheat in the eastern United States / A.S. Niewoehner, S. Leath // *Plant Dis.* — 1998. — Vol. 82. — P. 64–68.
104. Niu J.S. Cloning and characterization of a jasmonate-induced protein gene in wheat / J.S. Niu, Y. Chang, B.Q. Wang // *Acta Phytopathol. Sin.* — 2008. — Vol. 38. — P. 171–177.
105. Niu J. Molecular basis of powdery mildew resistance in wheat (*Triticum aestivum* L.) / J. Niu, D. He // *African Journal of Biotechnology.* — 2009. — Vol. 8 (19). — P. 4708–4716.
106. Nocente F. Evaluation of leaf rust resistance genes *Lr1*, *Lr9*, *Lr24*, *Lr47* and their introgression into common wheat cultivars by marker-assisted selection / F. Nocente, L. Gazza, M. Pasquini // *Euphytica.* — 2007. — Vol. 155. — P. 329–336.

107. Olivera P.D. Resistance of Sharon goat grass (*Aegilops sharonensis*) to fungal diseases of wheat / P.D. Olivera, Y. Anikster, J.A. Kolmer, B.J. Steffenson / Plant Dis. — 2007. — Vol. 91. — P. 942–950.
108. Olivera P.D. Genetics of resistance to wheat leaf rust, stem rust, and powdery mildew in *Aegilops sharonensis* // P. D. Olivera, E. Millet, Y. Anikster, B.J. Steffenson // Genetics and Resistance. — 2008. — Vol. 98, No. 3. — P. 353–358.
109. Opalski K.S. The receptor-like MLO protein and the RAC/ROP family G-protein RACB modulate actin reorganization in barley attacked by the biotrophic powdery mildew fungus *Blumeria graminis* f. sp. *Hordei* / K.S. Opalski, H. Schultheiss, K.H. Kogel, R. Hükelhoven // Plant J. — 2005. — Vol. 41. — P. 291–303.
110. Orgil U. Intraspecific genetic variations, fitness cost and benefit of *RPW8*, a disease resistance locus in *Arabidopsis thaliana* / U. Orgil, H. Araki, S. Tangchaiburana, R. Berkey, S. Xiao // Genetics. — 2007. — Vol. 176. — P. 2317–2333.
111. Panstruga R. Serpentine plant MLO proteins as entry portals for powdery mildew fungi / R. Panstruga // Biochem. Soc. — 2005. — Vol. 33. — 389–392.
112. Paull J.G. RFLP markers associated with *Sr22* and recombination between chromosome 7A of bread wheat and the diploid *Triticum boeoticum* / J.G. Paull, M.A. Pallotta, P. Langridge, T.T. The // Theor. Appl. Genet. — 1994. — Vol. 89. — P. 1039–1045.
113. Peusha H. Chromosome location of powdery mildew resistance genes in common wheat (*Triticum aestivum* L. em. Thell.). 3. Gene *Pm22* in cultivar Virest / H. Peusha, S.L.K. Hsam, F.J. Zeller // Euphytica. — 1996. — Vol. 91. — P. 149–152.
114. Peusha H. Chromosomal location of powdery mildew resistance genes and cytogenetic analysis of meiosis in common wheat cultivar Meri / H. Peusha, T. Enno, O. Prüliin // Hereditas. — 2000. — Vol. 132. — P. 29–34.

115. Pozo M.J. Jasmonates-signals in plant-microbe interactions / M.J. Pozo, L.C. Van Loon, C.M.J. Pieterse // *Plant Growth Regul.* — 2005. — Vol. 23. — P. 211–222.
116. Pshenichnikova T.A. The inheritance of morphological and biochemical traits introgressed into common wheat (*Triticum aestivum* L.) from *Aegilops speltoides* Tausch / T.A. Pshenichnikova, I.F. Lapochkina, L.V. Shchukina // *Genetic Resources and Crop Evolution.* — 2007. — Vol. 54. — P. 287–293.
117. Qi L.L. Identification, mapping, and application of polymorphic DNA associated with resistance gene *Pm21* of wheat / L.L. Qi, M.S. Cao, P.D. Chen, W.L. Li, D.J. Liu // *Genome.* — 1996. — 39. — P. 191–197.
118. Röder M.S. A microsatellite map of wheat / M.S. Röder, V. Korzun, K. Wendehake // *Genetics.* — 1998. — Vol. 149. — P. 2007–2023.
119. 119. Robe P. Genetic analysis of powdery mildew resistance of a winter-wheat line, RE714, and identification of a new specific-resistance gene / P. Robe, G. Doussinault // *Plant Breed.* — 1995. — Vol. 114. — P. 387–391.
120. Rong J.K. A new powdery mildew resistance gene: introgression from wild emmer into common wheat and RFLP-based mapping / J.K. Rong, E. Millet, J. Manisterski, M. Feldman // *Euphytica.* — 2000. — Vol. 115. — P. 121–126.
121. Schafer J.F. Rusts, smuts, and powdery mildew / J.F. Schafer // *In* E.G. Heyne, ed. *Wheat and wheat improvement*, 2nd ed., p. 542–584. — Madison, WI, USA, ASA, CSSA, SSSA. — 1987. — 564 p.
122. Schneider A. Utilization of *Aegilops* (goatgrass) species to widen the genetic diversity of cultivated wheat / A. Schneider, I. Molnar, M. Molnar-Lang // *Euphytica.* — 2008. — Vol. 163. — P. 1–19.
123. Shaner G. Reduced infectability and inoculum production as factors of slow mildewing in Knox wheat / G. Shaner // *Phytopathology.* — 1973 — Vol. 63. — P. 1307–1311.
124. Sharma A. Molecular markers: new prospects in plant genome analysis / A. Sharma, A. Namdeo, K.R. Mahadik // *Pharmacognosy Reviews.* — 2008. — Vol. 2, № 3. — P. 23–31.

125. Shi A.N. Transfer of a major gene for wheat powdery mildew resistance from einkorn wheat (*Triticum monococcum* var. *boeoticum*) to common wheat (*T. aestivum*) / A.N. Shi, S. Leath, J.P. Murphy // *Phytopathology*. — 1996. — Vol. 86. — P. 566–573.
126. Shi A.N. A major gene for powdery mildew resistance transferred to common wheat from wild einkorn wheat / A.N. Shi, S. Leath, J.P. Murphy // *Phytopathology*. — 1998. — Vol. 88. — P. 144–147.
127. Singh M. Optimum sample size for estimating gene diversity in wheat using AFLP markers / M. Singh, K. Chabane, J. Valkoun // *Genetic Resources and Crop Evolution*. — 2006. — Vol. 53. — P. 23–33.
128. Singrün C. Localization of a novel recessive powdery mildew resistance gene from common wheat line RD30 in the terminal region of chromosome 7AL / C. Singrün, S.L.K. Hsam, F.J. Zeller // *Theoretical and Applied Genetics*. — 2004. — Vol. 109. — P. 210 – 214.
129. Somers D.J. A high – density microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.) / D.J. Somers, P. Isaac, K. Edwards // — 2004. — Vol. 109. — P. 1105 –1114.
130. Song W. Molecular identification of *Pm12*-carrying introgression lines in wheat using genomic and EST-SSR markers / W. Song, H. Xie, Q. Liu // *Euphytica*. — 2007. — Vol. 158. — P. 95–102.
131. Song W.A. “One-marker-for-two-genes” approach for efficient molecular discrimination of *Pm12* and *Pm21* conferring resistance to powdery mildew in wheat / W. Song, C. Xie, J. Du // *Molecular Breeding*. — 2008. — Vol. 13. — P. 33–45.
132. Sourdille P. Microsatellite-based deletion bin system for the establishment of genetic-physical map relationships in wheat (*Triticum aestivum* L.) / P. Sourdille, S. Singh, T. Cadalen // *Funct Integr Genomics*. — 2004. — Vol. 4. — P. 12–25.
133. Srichumpa P. Allelic series of four powdery mildew resistance genes at the *Pm3* locus in hexaploid bread wheat / P. Srichumpa, S. Brunner, B. Keller, N. Yahiaoui // *Plant Physiol*. — 2005. — Vol. 139. — P. 885–895.

134. Srnic G. Genetics of resistance to powdery mildew in several wheat germplasm lines. Doctoral Thesis. — Raleigh, 2003.
135. Stepien L. Resistance genes in wild accessions of Triticeae – inoculation test and STS marker analysis / L. Stepien, V. Holubec, J. Chelkowski // Theoretical and Applied Genetics. — 2002. — Vol. 43., № 4. — P. 423–435.
136. Sun X. *Xa26*, a gene conferring resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in rice, encodes an LRR receptor kinase-like protein / X. Sun, Y. Cao, Z. Yang, C. Xu, X. Li, S. Wang, Q. Zhang // Plant J. — 2004. — Vol. 37. — P. 517–527.
137. Torada A. SSR-based linkage map with new markers using an intraspecific population of common wheat / A. Torada, M. Koike, K. Mochida // Theoretical and Applied Genetics. — 2006. — Vol. 112. — P. 1042–1051.
138. Tsujimoto H. Chromosome-specific behaviour in wheat with alien genetic materials / H. Tsujimoto, M. Garg, Q-W. Dou // Jpn. J. Genet. — 1988. — N 75. — P. 565–578.
139. Tsujimoto H. Gametocidal genes in wheat as the inducer of chromosome breakage / H. Tsujimoto // Wheat Information Service. — 2000. — N 100. — P. 33–48.
140. Valkoun J. J. Wheat pre-breeding using wild progenitors / J.J. Valkoun // Euphytica. — 2001. — Vol. 119. — P. 17–23.
141. Valkoun J. Disease resistance in the genus *Aegilops* L. – stem rust, leaf rust, stripe rust, and powdery mildew / J.Valkoun, K. Hammer, D. Kuceroval, P. Bartos // Kulturpflanze. — 1985. — Vol. 33. — 133–153.
142. Van der Plank JE. Horizontal and vertical resistance / J.E. Van der Plank // In Disease Resistance in Plants. — Orlando, FL: Academic. — 1984. — 194 p.
143. Vdovichenko Zh.V. Search for molecular-genetic markers of resistance to fungal diseases obtained by common wheat lines from *Aegilops* species / Zh.V. Vdovichenko, I.N. Marusik, T.K. Ternovskaya // Molecular Mechanisms of Genetic Processes and Biotechnology. Intern. Symp., Moscow, 18–21 November. — 2001/ — P. 176–177.

144. Vdovychenko Zh.V. Genetic analysis of the *T. aestivum*/*Ae. sharonensis* introgressive lines of common wheat for resistance to powdery mildew / Zh.V. Vdovychenko, M.Z. Antonyuk, T.K. Ternovskaya // Cytology and Genetics. — 2005. — Vol. 39, N 3. — P. 21–30.
145. Valkoun J. Disease resistance in the genus *Aegilops* L. – stem rust, leaf rust, stripe rust, and powdery mildew / J. Valkoun, K. Hammer, D. Kucerovala, P. Bartos // Kulturpflanze. — 1985. — Vol. 33. — P. 133–153.
146. Vikal Y. Tagging of *Aegilops speltoides* derived leaf rust resistance gene *Lr28* with a microsatellite marker in wheat / Y. Vikal, P. Chuneja, R. Singh // Plant Biochemistry and Biotechnology. — 2004. — Vol. 13. — P. 47–49.
147. Waninge J. A modified method of counting chromosomes in root tip cells of wheat / Waninge J. // Euphytica. — 1965. — Vol. 14, N 3. — P. 249–250.
148. Williams G.K. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers / G.K. Williams, A.R. Kubelik, J.L. Kenneth, A. Rafalski, V.T. Scott // Nucleic Acids Res. — 1995. — Vol. 18. — P. 6531–6535.
149. Wicker T. Contrasting rates of evolution in Pm3 loci from three wheat species and rice / T. Wicker, N. Yahiaoui, B. Keller // Genetics. — 2007. — Vol. 177. — P. 1207–1216.
150. Wiese M.V. Compendium of wheat diseases, 2nd ed./ M.V. Wiese // St Paul, MN, USA, APS Press. — 1987. — 634 p.
151. 151. Xie C. Chromosomal location of a *Triticum dicoccoides*-derived powdery mildew resistance gene in common wheat by using microsatellite markers / C. Xie, Q. Sun, Z. Ni, T. Yang, E. Nevo, T. Fahima // Theor. Appl. Genet. — 2003. — Vol. 106. — P. 341–345.
152. Xu H. Identification and mapping of *pm2026*: a recessive powdery mildew resistance gene in an einkorn (*Triticum monococcum* L.) accession / H. Xu, G. Yao, L. Xiong, L. Yang, Y. Jiang, B. Fu, W. Zhao, Z. Zhang, C. Zhang, Z. Ma // Theor. Appl. Genet. — 2008. — Vol. 117. — P. 471–477.

153. Yahiaoui N. Genome analysis at different ploidy levels allows cloning of the powdery mildew resistance gene *Pm3b* from hexaploid wheat. N. Yahiaoui, P. Srichumpa, R. Dudler, B. Keller // Plant J. — 2004. — Vol. 37. — P. 528–538.
154. Yahiaoui N. Rapid generation of new powdery mildew resistance genes after wheat domestication / N. Yahiaoui, S. Brunner, B. Keller // Plant J. — 2006. Vol. 47. — P. 85–98.
155. Yan L. Positional cloning of the wheat vernalization gene VRN1 / L. Yan, A. Loukoianov, G. Tranquilli, M. Helguera, T. Fahima, J. Dubcovsky // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2003. — Vol. 100. — P. 6263–6268.
156. Yehuda P. B. Leaf rust on *Aegilops speltoides* caused by new forma specialis of *Puccinia triticina* / P. B. Yehuda, T. Eilam, J. Manisterski // Phytopathology. — 2003. — Vol. 94, № 1. — P. 94–101.
157. Yildirim A. Genetic marker mediated transfer of an alien gene, *Pm21*, into wheat conferring resistance to powdery mildew / A. Yildirim, M. Sakin, Y. Karadag // Biotechnology and Biotechnological Equipment. — 2004. — Vol. 18, № 2. — P. 15–20.
158. Yu L. Cloning, physical mapping and expression analysis of a wheat *Mlo*-like gene / L. Yu, J.S. Niu, P.D. Cheng, Z.Q. Ma. D.J. Liu // J. Integr. Plant Biol. — 2005. — Vol. 47. — P. 214–222.
159. Yuan J. Development of *Triticum aestivum*-*Leymus racemosus* translocation lines using gametocidal chromosomes / J. Yuan, P. Chen, D. Liu // Science in China. Series C, Life sciences. — 2003. — Vol. 46, N 5. — P. 522–530.
160. Zeller F.J. Chromosome location of genes for resistance to powdery mildew in common wheat (*Triticum aestivum* L.) 1. *MLK* and other alleles at the *Pm3* locus / F.J. Zeller, J. Lutz, U. Stephan // Euphytica. — 1993. — Vol. 68. — P. 223–229.
161. Zeller F.J. Chromosomal location of genes for resistance to powdery mildew in common wheat (*Triticum aestivum* L. em Thell.). 7. Gene *Pm29* in

line Pova // F.J. Zeller, L. Kong, L. Hartl, V. Mohler, S.L.K. Hsam // Euphytica. — 2002. — Vol. 123. — P. 187–194.

162. Zhirov E.G. Substitution of D-genome in wheat / E.G. Zhirov, T.K. Ternovskaya // European Wheat Aneuploid Co-operative Newsletter. — Agricultural Res. Inst. of the Hungarian Acad. Sci., Martonvashar and Inst. of Plant Sci. Res. Cambridge Lab. — 1987. — P. 60–65.
163. http://www.physics.csbsju.edu/stats/exact_NROW_NCOLUMN_form.html
164. http://momotion.cns.montana.edu:81/molecular_medicine/attachments/Lorads_LOD.pdf