

ПОЛУЧЕНИЕ И ОЦЕНКА УДВОЕННЫХ ГАПЛОИДОВ НА ОСНОВЕ ЛИНИЙ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ С ТРАНСЛОКАЦИЕЙ ОТ AEGILOPS SPELTOIDES TAUSCH

Н. В. Петраш, младший научный сотрудник лаборатории генофонда растений,
pnv11@bionet.nsc.ru, ORCID ID: 0000-0002-7499-6803;

Е. А. Орлова, кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник лаборатории
генофонда растений, ORCID ID: 0000-0001-5084-375X

*Сибирский научно-исследовательский институт растениеводства и селекции –
филиал ИЦиГ СО РАН,
630501, Новосибирская обл., р.п. Краснообск, С-200, зд. 5, а/я 375*

Получение удвоенных гаплоидов (doubled haploid, DH) наряду с маркер-ориентированной селекцией становится неотъемлемой частью современного селекционного процесса. В настоящем исследовании в качестве доноров для получения DH использовали линии F_5 мягкой пшеницы 983, 986 и 987, которые были отобраны ранее из комбинации скрещивания позднеспелой линии Велют (содержит транслокации 5BS.5BL-5SL от *Ae. speltoides* и T1RS.1BL от ржи) с раннеспелым сортом Тулун 15. Целью данной работы было получение удвоенных гаплоидов в культуре пыльников *in vitro* на основе гибридных линий мягкой пшеницы с транслокацией от *Ae. speltoides* L. и оценка их по устойчивости к бурой ржавчине и хозяйственно ценным признакам. Получение DH проводили в культуре пыльников *in vitro*, в опыте не обнаружено влияния транслокации от *Ae. speltoides* на показатели андрогенеза *in vitro*. Установлено значимое превышение по всем изучаемым параметрам у линии 986, что, по-видимому, связано с присутствием у нее ржаной транслокации в гетерозиготном состоянии. Всего в опыте получено 17 DH-линий, по результатам молекулярного анализа ДНК с праймерами Gill-B1 и Chi_5F/5R определено 6 DH-линий с транслокацией 5BS.5BL-5SL и одна линия с T1RS.1BL. В ходе изучения реакции к возбудителю бурой ржавчины DH-линий на разных стадиях развития растений установлено, что ген *LrAsp 5*, переданный в геном мягкой пшеницы с транслокацией 5BS.5BL-5SL, является геном возрастной устойчивости к *Puccinia triticina*. Выявлено, что DH-линии с геном *LrAsp 5* в ювенильной стадии имели тип поражения бурой ржавчиной 2 балла, тогда как на взрослых растениях в поле отмечали устойчивый тип реакции (0–1 балл). Пять DH-линий были отобраны для включения в дальнейший селекционный процесс. В настоящей статье приводятся данные их полевой оценки по элементам структуры урожая в 2020–2021 годах. Обнаружено, что значения изучаемых линий по эти признакам находились в пределах значений родителей. По массе 1000 зерен в сравнении с сортом Тулун 15 выделились DH 16-1 (34,6г) и DH 9-2 (34,9г), по массе зерна с растения – DH 7-2 (2,2 г).

Ключевые слова: яровая мягкая пшеница, удвоенные гаплоиды, чужеродные транслокации, структурный анализ, бурая ржавчина, ген *LrAsp 5*.

Для цитирования: Петраш Н. В., Орлова Е. А. Получение и оценка удвоенных гаплоидов на основе линий яровой мягкой пшеницы с транслокацией от *Aegilops speltoides* Tausch // Зерновое хозяйство России. 2025. Т. 17, № 1. С. 47–53. DOI: 10.31367/2079-8725-2025-96-1-47-53.



PRODUCTION AND ESTIMATION OF DOUBLED HAPLOIDS IN THE SPRING COMMON WHEAT LINES WITH TRANSLOCATION FROM AEGILOPS SPELTOIDES TAUSCH

N. V. Petrash, junior researcher of the laboratory for plant gene pool,
pnv11@bionet.nsc.ru, ORCID ID 0000-0002-7499-6803;

E. A. Orlova, Candidate of Agricultural Sciences, leading researcher of the laboratory
for plant gene pool, ORCID ID: 0000-0001-5084-375X

*Siberian Research Institute of Plant Cultivation and Breeding,
the branch of Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of RAS,
630501, Novosibirsk region, Krasnoobsk, C-200 Str., 5/1, p/b 375*

The development of doubled haploids (DH) along with marker-assisted breeding is becoming an integral part of the modern breeding process. In the current study, the F_5 common wheat lines '983', '986' and '987', which were previously selected from the hybridization of the late-maturing line 'Velyut' (with translocations 5BS.5BL-5SL from *Ae. speltoides* and T1RS.1BL from rye) with the early-maturing variety 'Tulun 15', were used as donors to obtain DH. The purpose of the current work was to obtain doubled haploids in anther culture *in vitro* based on hybrid lines of common wheat with translocation from *Ae. speltoides* L. and to estimate them for brown rust resistance and economically valuable traits. DH was obtained in anther culture *in vitro*, and there was no effect of translocation from *Ae. speltoides* on androgenesis indices *in vitro* in the trial. There has been established a significant excess of all studied parameters in the line '986', which might be caused by the presence of a rye translocation in a heterozygous state. There were obtained 17 DH lines in the trial. According to the results of molecular DNA analysis with the primers Gill-B1 and Chi_5F/5R, there have been identified 6 DH lines with the translocation 5BS.5BL-5SL and one line with T1RS.1BL. During the study of the reaction of DH lines to the brown rust pathogen at different stages of plant development, there has been found out that the gene *LrAsp 5* transferred to the common wheat genome with the translocation 5BS.5BL-5SL is the age-related resistance gene to *Puccinia triticina*. There has been determined that DH lines

with the gene *LrAsp 5* at the juvenile stage had a 2-point brown rust damage, while on adult plants there was a resistant reaction type (0–1 point). There have been selected five DH lines for introduction into the further breeding process, the current paper has presented the data on their field estimation of yield structure elements in 2020–2021. There has been found that the values of the studied lines for these traits were within the values of the parents. There have been identified DH 16-1 (34.6 g) and DH 9-2 (34.9 g) with the best value of 1000-grain weight in comparison with the variety 'Tulun 15', and DH 7-2 (2.2 g) with the best value of grain weight per plant.

Keywords: spring common wheat, doubled haploids, alien translocations, structural analysis, brown rust, gene *LrAsp 5*.

Введение. Пшеница является одной из наиболее распространенных зерновых культур в мире, которая вносит ключевой вклад в продовольственную безопасность населения Земли. В основную задачу селекционеров входит создание сортов пшеницы с широкой адаптивностью, высокой урожайностью и устойчивостью к абиотическим и биотическим стрессам. С ужесточением отбора происходит сужение генетического разнообразия культуры, что приводит к появлению высокоурожайных сортов с низким качеством зерна и восприимчивостью к болезням. Использование генофонда близкородственных и отдаленных сороридей для обогащения генома мягкой пшеницы помогает решить эту проблему. Чужеродный генетический материал несет множество агрономически важных признаков и обеспечивает разнообразие существующих сортов (Friebe et al., 1996). Одним из широко используемых в интрогрессивной гибридизации пшеницы является вид *Aegilops speltoides* Tausch. От *Ae. speltoides* в геном пшеницы переданы гены устойчивости к стеблевой ржавчине (*Sr32*, *Sr39* и *Sr47*), мучнистой росе (*Pm12*, *Pm32*, *Pm53* и *Pm57*) и листовой ржавчине (*Lr28*, *Lr35*, *Lr36*, *Lr47*, *Lr51*, *Lr66*, *LrSp2* и *LrAsp5*) (Адонина и др., 2021).

В современном мире скорость выведения новых сортов становится не менее важным аспектом, чем сами направления селекции. Исследователи должны иметь инструменты, которые позволяют им быстро реагировать на новые запросы, будь то гены устойчивости к болезням или признаки адаптивности. Одним из таких инструментов стал метод удвоенных гаплоидов (doubled haploid, DH), который наряду с маркер-ориентированной селекцией стал неотъемлемой частью современного селекционного процесса. Этот метод позволяет достичь полной гомозиготности в одном поколении, что значительно ускоряет процесс выведения новых сортов, сокращая трудозатраты и материальные расходы. DH-линии, полученные в результате андрогенеза *in vitro*, широко используются в различных сферах. Они применяются для создания картирующих популяций, генетической трансформации, изучения рецессивных мутаций и закрепления ценных генов в новом генетическом окружении (Weuen J., 2021). Было установлено, что отзывчивость к андрогенезу *in vitro* зависит от генетических факторов (Seguí-Simarro et al., 2021). Кроме того, участки чужеродного генетического материала также могут оказывать влияние на регенерацию растений. Например, пшенично-ржаная транслокация 1RS-1BL оказывает положитель-

ное влияние на регенерацию растений в культуре пыльников *in vitro* (Тимонова и др., 2022).

В данной работе были использованы линии мягкой пшеницы, полученные ранее на основе устойчивой к бурой ржавчине (*Puccinia triticina* Erikss) линии Велют. Известно, что устойчивость Велют определяется новым геном *LrAsp5*, который был передан с транслокацией 5BS-5BL-5SL от *Ae. speltoides* L. (Адонина и др., 2012).

Целью данной работы было получение удвоенных гаплоидов в культуре пыльников *in vitro* на основе гибридных линий мягкой пшеницы с транслокацией от *Ae. speltoides* L. и их оценка по хозяйственно ценным признакам.

Материалы и методы исследований. В процессе получения диплоидных линий (DH) в качестве доноров использовали три линии яровой мягкой пшеницы поколения F₅: 983, 986 и 987. Эти линии были получены в результате скрещивания позднеспелой селекционной линии Велют с раннеспелым сортом Тулун 15 (Иркутский НИИСХ). Линия Велют несет чужеродные транслокации от ржи *Secale cereale* L. (T1RS.1BL) и от *Ae. speltoides* (T5BS.5BL-5SL). Исходные гибридные линии различались по устойчивости к бурой ржавчине и продолжительности вегетационного периода. Было установлено, что линии 983 и 987 содержат транслокацию от *Ae. speltoides*, в то время как линия 986 является гетерогенной по двум транслокациям: T5BS.5BL-5SL и T1RS.1BL.

Для получения DH-линий мы использовали методику культивирования пыльников на питательной среде, описанную ранее (Петраш, 2022). Растения – доноры пыльников выращивали в полевых условиях, сбор донорных колосьев проводили, когда большая часть микроспор находилась в средней или поздней одноядерной стадии развития, что соответствует расположению середины колоса на уровне влагалища второго сверху листа. Индукцию андрогенеза *in vitro* осуществляли на среде P4, дополненной 90 г/л сахарозы, 6 г/л агара и 1 мг/л регулятора роста 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д). Для регенерации растений использовали среду Гамборга, В5, с добавлением сахарозы – 30 г/л, растительного агара – 5 г/л, НИК и кинетина – по 0,5 мг/л. Спонтанно полученные DH выращивали до полной зрелости зерна, а гаплоидные растения подвергали искусственному удвоению числа хромосом с помощью колхицина. Перед обработкой колхицином растения выдерживали в холоде при температуре 4–5 °С в течение 1–2 ч, затем вынимали из почвы (сосуда), промывали кор-

ни водой и обрезали примерно на одну треть. После этого растения до узла кущения помещали в 0,2 %-й раствор колхицина с добавлением 2 % DMSO на 4–5 ч в темное место. После обработки растения промывали 3–4 ч в дистиллированной воде с аэрацией и высаживали в сосуды с почвой. Удвоение числа хромосом у гаплоидов определяли по наличию завязавшихся в колосе зерновок. Для характеристики эффективности культуры пыльников учитывали следующие показатели: число продуктивных пыльников, число ЭС, число зеленых регенерантов, число альбиносов и все вышеперечисленные показатели в пересчете на 100 пыльников, а также рассчитывали регенерационную способность, которая отражает способность ЭС формировать проростки.

Оценку признаков структуры урожая ДН-линий и их родителей проводили на опытном участке СибНИИРС – филиал ИЦиГ СО РАН в 2020 и 2021 годах. Каждый генотип был высеян в двух повторениях на делянках шириной 50 см с расстоянием между рядками 20 см. В течение вегетационного периода проводили учеты даты всходов, колошения, созревания, на основании которых определялась продолжительность периода вегетации. Индивидуальный анализ 20 выборочных растений каждого генотипа включал данные по следующим признакам: высота растений, длина колоса, продуктивная кустистость, число колосков в главном колосе, число зерен главного колоса и всего растения, масса зерна главного колоса и всего растения, масса 1000 зерен.

Оценку устойчивости образцов к бурой ржавчине проводили в полевых условиях на естественном фоне в период максимального развития болезни по шкале Майса и Джексона. Кроме того, была определена ювенильная устойчивость к бурой ржавчине на молодых вегетирующих растениях, выращенных в сосудах с почвой в искусственных условиях вегетационно-климатического шкафа «Биотрон-4» (СибФТИ СФНЦА РАН, Россия). Условия выращивания включали температуру день/ночь 20/18 °С, влажность 80 % и световой период 16/8. Заражение проводили на 8–10-дневных растениях суспензией спор сборной популяции возбудителя бурой ржавчины, повторность

трехкратная. После инокуляции растения накрывали полиэтиленовой пленкой и выдерживали без освещения 16–18 ч. Учет поражения растений бурой ржавчиной проводили в три срока, начиная с седьмых суток после заражения. Стандартом служил восприимчивый к возбудителю *P. tritricina* сорт Скала. Оценку в динамике выполняли по шкале Майнса и Джексона. В момент максимального поражения инфекцией определяли тип инфекции по шкале Roelfs et al. и степень поражения в % по шкале Петерсона.

ДНК из молодых листьев выделяли по стандартной методике, описанной J. Plaschke с соавторами. Выделенную ДНК анализировали методом ПЦР с маркерами Gill-B1 (Ren et al., 2022) к транслокации 1RS.1BL и Chi_5F/5R (Shoeva et al., 2016) к T5BS.5BL-5SL.

Погодные условия в 2020 и 2021 гг. имели значительные различия как по уровню влажности, так и по температурному режиму. В целом вегетационные периоды этих двух лет были более теплыми, чем в среднем за многолетний период наблюдений. К началу сентября 2020 г. сумма эффективных температур составила 1847,5 °С, а в 2021 г. – 1511 °С при средней многолетней 1428 °С. Уровень влагообеспеченности вегетационного периода 2020 г. был достаточным (ГТК за май–август составил 1,15), за исключением июня, когда наблюдалась легкая засуха с ГТК, равным 0,5. В 2021 г., напротив, уровень влагообеспеченности был недостаточным (ГТК за май–август – 0,9), а в мае и июле наблюдалась засуха.

Полученные данные обрабатывали средствами программного пакета Microsoft Excel 2010.

Результаты и их обсуждение. В ходе культивирования пыльников на индукционной среде все исследуемые линии образовывали преимущественно эмбриоподобные структуры (ЭС) и небольшую часть каллусов. Для регенерации выбирали только ЭС, в дальнейшем из них наблюдали развитие единичных зеленых растений, кластеров зеленых растений (семья) и хлорофилл-дефектные проростки (альбиносы). В таблице 1 представлены результаты культивирования пыльников трех гибридных линий F_5 (Велют×Тулун 15).

Таблица 1. Результаты культивирования пыльников линий яровой мягкой пшеницы F_5 (Велют×Тулун 15)
Table 1. Results of anther cultivation of spring common wheat lines F_5 ('Velyut'×'Tulun 15')

Генотип	Число культивированных пыльников, шт	Продуктивные пыльники		Эмбриоподобные структуры		Зеленые проростки		Альбиносы		Регенерационная способность (G+A)/E*100%
		Общее число, шт.	На 100 пыльников, %	Общее число, шт.(E)	На 100 пыльников, %	Общее число, шт (G)	На 100 пыльников, %	Общее число, шт. (A)	На 100 пыльников, %	
л. 983	957	22	2,30	19	1,99	4	0,42	4	0,42	42,1*
л. 986	2244	115	5,12*	205	9,14*	42	1,87*	40	1,78*	40
л. 987	1269	15	1,18	25	1,97	8	0,63	2	0,16	40
Всего	4470	152	–	249	–	54	–	46	–	–

Продолжение табл. 1

Генотип	Число культивируемых пыльников, шт	Продуктивные пыльники		Эмбриоподобные структуры		Зеленые проростки		Альбиносы		Регенерационная способность (G+A)/E*100%
		Общее число, шт.	На 100 пыльников, %	Общее число, шт.(E)	На 100 пыльников, %	Общее число, шт (G)	На 100 пыльников, %	Общее число, шт. (A)	На 100 пыльников, %	
Ср. знач. (X)	1490	50,67	2,87	83	4,37	18	0,97	15,33	0,79	40,7
Ст. отклон. (S)	–	–	2,03	–	4,13	–	0,79	–	0,87	1,21

Примечание. л. – линия; (X) – среднее значение; Ст. отклон. (S) – стандартное отклонение; «*» – значение признака превышает пределы X+1S.

В общей сложности было выделено 4470 пыльников, из которых регенерировало 54 зеленых проростка, что составляет среднюю частоту 0,97 %. Наибольшей эффективностью в культуре пыльников отличалась линия 986, из 2244 выделенных пыльников 5,12 % сформировали андрогенные структуры. Всего было получено 205 эмбриоподобных структур (9,14 %), из которых регенерировало 42 зеленых растения (1,87 %) и 40 альбиносов (1,78 %).

Линии 983 и 987, обладающие транслокацией в 5В хромосоме от *Ae. speltoides*, показали схожие результаты по оцениваемым признакам, однако их значения были ниже, чем у линии 986. У линий 983 и 987 формировалось 1,99 и 1,97 ЭС на 100 выделенных пыльников и регенерировало по 0,42 и 0,63 % зеленых проростков соответственно. Регенерационная способность линий 986 и 987 составила 40 %, в то время как линия 983 имела более высокую частоту регенерации ЭС (42,1 %).

Сравнение показателей андрогенеза *in vitro* выявило различия в реакции исследуемых линий. Ранее было установлено, что интрогрессия 5BS.5BL.5SL не оказывает влияния на эффективность андрогенеза в условиях *in vitro* (Тимонова и др., 2022). Превышение значений по всем изучаемым параметрам относительно среднего значения у линии 986 можно объяснить присутствием транслокации 1RS.1BL в гетерозиготной форме, которая положительно влияет

на отзывчивость к андрогенезу. Всего в опыте было создано 17 ДН-линий, включая одну линию, полученную в результате искусственного удвоения числа хромосом с использованием колхицина. Все эти линии были высеяны в поле для изучения их хозяйственно ценных признаков и устойчивости к бурой ржавчине.

Наличие интрогрессий у ДН-линий и их родителей определяли с помощью молекулярных маркеров, подобранных к транслокации от *Ae. speltoides* в 5В хромосоме (Chi_5F/5R) и транслокации от ржи в 1В хромосоме (Gill-B1). Идентифицировано наличие T5BS.5BL.5SL с геном *LrAsp 5* у следующих образцов: ДН 2 и ДН 17 (донор л. 987), ДН 3, ДН 4к, ДН 5 (донор л. 983), ДН 7, ДН 8, ДН 10, ДН 13, ДН 14, ДН 16 (донор л. 986) и материнской линии Велют. Сорт Тулун 15 и линии ДН 15, ДН 12, ДН 9 (донор л. 986) не несут интрогрессии (табл. 2). Транслокация от ржи определена только у ДН 9 (донор л. 986) и линии Велют.

Исследования устойчивости ДН-линий к бурой ржавчине проводили как в полевых, так и в лабораторных условиях. По результатам полевых испытаний на естественном фоне (табл. 2) следующие образцы проявили устойчивость (0–1 балл): ДН 2, ДН 3, ДН 4к, ДН 5, ДН 7, ДН 8, ДН 10, ДН 13, ДН 14, ДН 16, ДН 17 и линия Велют. Восприимчивость (3–4 балла) к *P. triticina* была отмечена у следующих образцов: ДН 6, ДН 9, ДН 11, ДН 12, ДН 15, ДН 18 и сорт Тулун 15.

Таблица 2. Результаты оценки ДН-линий и их родителей по устойчивости к бурой ржавчине
Table 2. Results of evaluation of DH lines and their parents for resistance to leaf rust

Образец	Происхождение	Наличие транслокации 5BS.5BL-5SL*	Наличие транслокации T1RS.1BL*	Максимальное поражение бурой ржавчиной		
				Полевая оценка 2020–2021 гг., балл	Искусственное заражение	
					Балл	% и тип реакции
ДН 2	л. 987	+	–	0–1н	2н	30MR
ДН 3	л. 983	+	–	0–1н	2н	30MR
ДН 4к**	л. 983	+	–	0–1н	нд	нд
ДН 5	л. 983	+	–	0–1н	2н	20MR
ДН 6	л. 986	–	–	4	нд	нд
ДН 7	л. 986	+	–	0–1н	2н	20MR
ДН 8	л. 986	+	–	0–1н	2н	20MR
ДН 9	л. 986	–	+	3–4	нд	нд
ДН 10	л. 986	+	–	0–1н	2н	20MR
ДН 11	л. 986	–	–	4	нд	нд
ДН 12	л. 986	–	–	4	3	40MS
ДН 13	л. 986	+	–	0–1н	нд	нд
ДН 14	л. 986	+	–	0–1н	2н	15MR

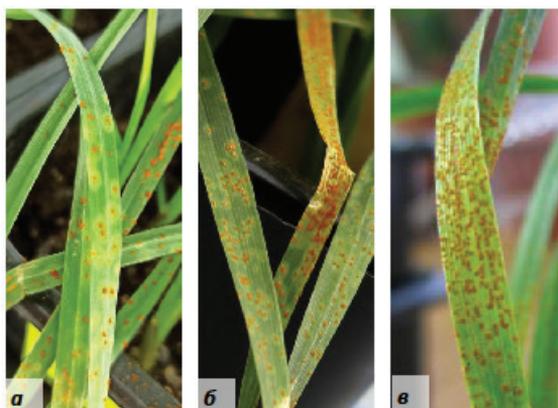
Продолжение табл. 2

Образец	Происхождение	Наличие транслокации 5BS.5BL-5SL*	Наличие транслокации T1RS.1BL*	Максимальное поражение бурой ржавчиной		
				Полевая оценка 2020–2021 гг., балл	Искусственное заражение	
					Балл	% и тип реакции
DH 15	л. 986	–	–	4	нд	нд
DH 16	л. 986	+	–	0–1н	2н	15MR
DH 17	л. 987	+	–	0–1н	нд	нд
DH 18	л. 986	–	–	4	нд	нд
л. Велют	–	+	+	0-1н	нд	нд
Тулун 15	–	–	–	3–4	нд	нд
Скала	–	нд	нд	4	4	60S

Примечание. «*» – подтверждено результатам молекулярного анализа ДНК, знак «+» указывает на наличие транслокации, знак «–» указывает на отсутствие транслокации; «**» – линия получена при искусственном удвоении числа хромосом с использованием колхицина; добавление буквы «н» означает развитие некротической реакции; «нд» – данные не получены.

В лабораторных условиях была проведена оценка реакции к возбудителю бурой ржавчины на молодых вегетирующих растениях. Восемь линий, содержащих транслокацию в 5В, сравнивали по типу реакции с линией DH 12 без транслокации (табл. 2). Данные образцы были выбраны как наиболее интересные по комплексу хозяйственно ценных признаков и устойчивости в полевых условиях. У линий с геном *LrAsp 5* развитие болезни происходило одинаково: сначала возникали некрозы, затем формировались небольшие пустулы (2 балла по шкале Майса и Джексона),

занимающие от 15 до 30 % поверхности листа. Эти линии были отнесены к относительно устойчивым (MR). Линия DH 12, не содержащая транслокацию в 5В, показала более высокий уровень поражения – 40 %. На ее листьях образовывались средние пустулы (3 балла по шкале Майса и Джексона), что соответствует умеренно восприимчивому (MS) типу реакции. Сорт Скала, который относится к восприимчивым (S), был поражен на 60 %. На его листьях формировались средние и крупные сливающиеся пустулы (4 балла по шкале Майнса и Джексона) (см. рисунок).



Развитие бурой ржавчины на молодых вегетирующих растения в лабораторных условиях:
а – DH 2 (несет транслокацию 5BS.5BL-5SL), б – DH 12 (без транслокаций), в – сорт Скала
Leaf rust growth on young vegetative plants in laboratory conditions:
a – DH 2 (with translocation 5BS.5BL-5SL), b – DH 12 (without translocations), c – the variety 'Skala'

Сравнение результатов оценки полевой устойчивости к бурой ржавчине с данными молекулярного анализа полученных DH-линий подтверждает неоднородность донорной линии 986 по интрогрессиям. Из 12 DH-линий, созданных на ее основе, у б была обнаружена транслокация в 5В от *Ae. speltoides*, а у одной (л. DH 9) – пшенично-ржаная транслокация в 1В. Линии 987 и 983 несут только транслокацию 5В, как и устойчивые к возбудителю бурой ржавчины DH-линии, полученные на их основе. В ходе изучения действия гена *LrAsp5* на разных стадиях развития растений установлен неодинаковый характер проявления устойчи-

вости к *P. tritricina*. В ювенильной стадии наблюдали поражение DH-линий с геном *LrAsp5* (MR, 2 балла), однако в полевых условиях эти линии проявляли устойчивость (R, 0–1 балл). Ранее уже сообщалось о проявлении устойчивости взрослых растений пшеницы с геном *LrAsp5* к возбудителю бурой ржавчины (Адолина и др., 2012). Зависимость степени проявления болезни от стадии развития растений характеризует действие генов возрастной устойчивости (Сколотнева и Салина, 2019). Таким образом, мы предлагаем классифицировать ген *LrAsp5* как возрастной ген устойчивости к бурой ржавчине

После предварительного изучения линий по хозяйственно ценным признакам совместно с селекционерами были отобраны пять лучших образцов. В настоящее время они включены

в селекционный процесс СибНИИРС – филиал ИЦиГ СО РАН. В таблице 3 представлены результаты оценки пяти отобранных линий по показателям структуры урожая в 2020–2021 годах.

Таблица 3. Анализ структуры урожая линий удвоенных гаплоидов яровой мягкой пшеницы и их родительских сортов (2020–2021 гг.)
Table 3. Analysis of the yield structure of doubled haploids of spring common wheat lines and their parental varieties (2020–2021)

Образец	Средние значения за годы изучения									
	Вегетационный период, дней	Продуктивная кустиность, шт.	Высота растения, см	Длина колоса, см	Число колосков в главном колосе, шт.	Число зерен главного колоса, шт.	Масса зерна главного колоса, г	Число зерен растения, шт.	Масса зерна растения, г	Масса 1000 зерен, г
DH 7-2	86	1,9	75	8,6*	17,9*	45,6	1,6*	63,9	2,2*	33,1
DH 8-3	90	1,8	72,3	8,5*	17,3*	42,5	1,4	63,1	2,0	30,8
DH 16-1	86	1,8	78	8	18*	29,9	1	44,4	1,5	34,6*
DH 9-2	88	1,7	84,9*	8,6*	17,8*	34,3	1,3	52,1	1,9	34,9*
DH 12-6	86	2,4*	76,8	9,8*	19*	41	1,1	78,9*	2,0	26,8
Велют	92	1,8	86,7	10,3	18,7	54,5	1,9	76	2,6	34,5
Тулун 15	83	1,7	71,2	7	15	36,5	1,1	49	1,5	29,7
Среднее	86,9	1,9	77,8	8,7	17,7	40,6	1,3	61,1	2,0	32,1
HCP _{0,05}	3,9	0,3	7,8	1,4	1,7	10,6	0,4	17,4	0,5	4,0
Стандартное отклонение	3,0	0,2	7,6	1,0	1,4	7,5	0,3	12,3	0,4	3,7

Примечание. «*» – достоверное превышение значения в сравнении с сортом Тулун 15.

Продолжительность вегетационного периода изучаемых линий была промежуточной по сравнению с родителями и составила 86–90 дней. Линии DH 7-2, DH 16-1 и DH 12-6 отнесены к среднеспелым, DH 9-2 – к среднепоздней и DH 8-3 – к позднеспелой группе. Также в пределах значений родителей распределялись линии по высоте – от 72,3 см (DH 8-3) до 84,9 см (DH 9-2). Длина колоса и число колосков в колосе исследуемых линий были близки к лучшему родителю (линия Велют) – от 8 до 9,8 см и от 17,3 до 19 колосков соответственно – и достоверно превышали сорт Тулун 15, за исключением длины колоса линии DH 16-1. По продуктивности колоса в сравнении с сортом Тулун 15 выделился образец DH 7-2 (масса зерна 1,6 г), значения остальных линий были в пределах родителей. По массе зерна с растения относительно Тулун 15 выделилась линия DH 7-2 (2,2 г). Крупное зерно на уровне лучшего родителя формировали DH 16-1 и DH 9-2 – 34,6 и 34,9 г соответственно при среднем по опыту 32,1 г.

Выводы. Получение удвоенных гаплоидов с транслокацией 5BS.5BL-5SL проводили на основе линий F₅ 983, 987 и 986, полученных от скрещивания Велют и Тулун 15. Влияния транслокации в 5В хромосому от *Ae. speltoides* на способность к андрогенезу *in vitro* выявлено не было. Высокая отзывчивость в андрогенезе линии 986, по-видимому, связана с ее ге-

терогенностью по интрогрессиям 5BS.5BL-5SL и T1RS.1BL. Всего в культуре пыльников *in vitro* нами было получено 17 линий удвоенных гаплоидов, у одиннадцати DH-линий определена транслокация 5BS.5BL-5SL с геном *LrAsp 5* и у одной (DH 9) – транслокация 1RS.1BL от ржи. Выявлена зависимость устойчивого типа реакции к *P. triticina* (0–1 балл) взрослых растений DH-линий от наличия T5BS.5BL-5SL. Охарактеризован тип проявления и развития болезни бурой ржавчины на молодых растениях DH-линий с геном *LrAsp 5* и без него. Ген *LrAsp 5*, отвечающий за устойчивость к бурой ржавчине, предлагаем определить как ген возрастной устойчивости. В дальнейший селекционный процесс включены линии DH 7-2, DH 8-3, DH 16-1, DH 9-2 и DH 12-6, проведена их оценка по структуре урожая. Таким образом, применение методов удвоенных гаплоидов и молекулярно-генетического анализа позволило создать исходный селекционный материал, обладающий генетической стабильностью, высокими показателями продуктивности и устойчивостью к бурой ржавчине.

Финансирование. Работа поддержана бюджетными проектами ИЦиГ СО РАН № FWNR-2022-0018 и № FWNR-2024-0013. Авторы выражают благодарность профессору Е.А. Салиной за предоставленный для исследования растительный материал и рецензентам за их вклад в экспертную оценку этой работы.

Библиографический список

1. Адонина И. Г., Петраш Н. В., Тимонова Е. М., Христов Ю. А., Салина Е. А. Создание и изучение устойчивых к листовой ржавчине линий мягкой пшеницы с транслокациями от *Aegilops speltoides* Tausch // Генетика. 2012. Т. 48, №4. С. 488–488.

2. Адонина И. Г., Тимонова Е. М., Салина Е. А. Интрогрессивная гибридизация мягкой пшеницы: результаты и перспективы // Генетика. 2021. Т. 57, №4. С. 384–402. DOI: 10.31857/S0016675821030024

3. Петраш Н. В., Орлова Е. А., Лихенко И. Е., Пискарев В. В. Изучение эффективности культуры пыльников *in vitro* сортов и гибридов мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) // Зерновое хозяйство России. 2022. Т. 14, № 6. С. 17–22. DOI: 10.31367/2079-8725-2022-83-6-17-22
4. Тимонова Е. М., Адонина И. Г., Салина Е. А. Изучение влияния чужеродных транслокаций на показатели андрогенеза *in vitro* у линий мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2022. Т. 183, № 1. С. 127–134. DOI: 10.30901/2227-8834-2022-1-127-134
5. Сколотнева Е. С., Салина Е. А. Разнообразие механизмов устойчивости, вовлеченных в многоуровневый иммунитет пшеницы к ржавчинным // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2019. Т. 23, № 5. С. 542–550. DOI 10.18699/VJ19.523
6. Friebe B., Jiang J., Raupp W.J., McIntosh R.A., Gill B.S. Characterization of wheat-alien translocations conferring resistance to diseases and pests: current status // Euphytica. 1996. Vol. 91, P. 59–87. DOI 10.1007/BF00035277
7. Ren T., Jiang Q., Sun Z., Ren Z., Tan F., Yang W., Li Z. Development and Characterization of Novel Wheat-Rye 1RS·1BL Translocation Lines with High Resistance to *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* // Phytopathology. 2022. Vol. 112, № 6. P. 1310–1315. DOI: 10.1094/PHYTO-07-21-0313-R
8. Seguí-Simarro J. M., Jacquier N. M., Widiez T. Overview of *in vitro* and *in vivo* doubled haploid technologies. In: Seguí-Simarro, J.M. (Eds.) Doubled Haploid Technology. Vol. 1. General Topics, Alliaceae, Cereals // Methods in Molecular Biology. New York: Springer Science + Business Media, 2021. Vol. 2287, P. 3–32. DOI: 10.1007/978-1-0716-1315-3_1
9. Shoeva O. Y., Dobrovolskaya O. B., Leonova I. N., Salina E. A., Khlestkina E. K. The B-, G- and S-genomic Chi genes in family Triticeae // Biologia Plantarum. 2016. Vol. 60, № 2. P. 279–284. DOI: 10.1007/s10535-016-0595-5
10. Weyen J. Applications of doubled haploids in plant breeding and applied research // Doubled haploid technology: volume 1: general topics, alliaceae, cereals. 2021. P. 23–39. DOI: 10.1007/978-1-0716-1315-3_2

References

1. Adonina I. G., Petrash N. V., Timonova E. M., Khristov Yu. A., Salina E. A. Sozdanie i izuchenie ustoichivyykh k listovoi rzhavchine linii myagkoi pshenitsy s translokatsiyami ot *Aegilops speltoides* Tausch [Development and study of leaf rust resistant lines of common wheat with translocations from *Aegilops speltoides* Tausch] // Genetika. 2012. T. 48, № 4. S. 488–488.
2. Adonina I. G., Timonova E. M., Salina E. A. Introgressivnaya gibrizatsiya myagkoi pshenitsy: rezul'taty i perspektivy [Introgressive hybridization of common wheat: results and prospects] // Genetika. 2021. T. 57, № 4. S. 384–402. DOI: 10.31857/S0016675821030024
3. Петраш Н. В., Орлова Е. А., Лихенко И. Е., Пискарев В. В. Изучение эффективности культуры пыльников *in vitro* сортов и гибридов мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) [Study of the efficiency of anther culture *in vitro* of common wheat varieties and hybrids (*Triticum aestivum* L.)] // Зерновое хозяйство России. 2022. Т. 14, № 6. С. 17–22. DOI: 10.31367/2079-8725-2022-83-6-17-22
4. Тимонова Е. М., Адонина И. Г., Салина Е. А. Изучение влияния чужеродных транслокаций на показатели андрогенеза *in vitro* у линий мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) [Study of the effect of foreign translocations on androgenesis indices *in vitro* in common wheat lines (*Triticum aestivum* L.)] // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2022. Т. 183, № 1. С. 127–134. DOI: 10.30901/2227-8834-2022-1-127-134
5. Сколотнева Е. С., Салина Е. А. Разнообразие механизмов устойчивости, вовлеченных в многоуровневый иммунитет пшеницы к ржавчинным [Diversity of resistance mechanisms involved in multilevel rust immunity of wheat] // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2019. Т. 23, № 5. С. 542–550. DOI: 10.18699/VJ19.523
6. Friebe B., Jiang J., Raupp W.J., McIntosh R.A., Gill B.S. Characterization of wheat-alien translocations conferring resistance to diseases and pests: current status // Euphytica. 1996. Vol. 91, P. 59–87. DOI: 10.1007/BF00035277
7. Ren T., Jiang Q., Sun Z., Ren Z., Tan F., Yang W., Li Z. Development and Characterization of Novel Wheat-Rye 1RS·1BL Translocation Lines with High Resistance to *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* // Phytopathology. 2022. Vol. 112, № 6. P. 1310–1315. DOI: 10.1094/PHYTO-07-21-0313-R
8. Seguí-Simarro J. M., Jacquier N. M., Widiez T. Overview of *in vitro* and *in vivo* doubled haploid technologies. In: Seguí-Simarro, J.M. (Eds.) Doubled Haploid Technology. Vol. 1, General Topics, Alliaceae, Cereals // Methods in Molecular Biology. New York: Springer Science + Business Media, 2021. Vol. 2287, P. 3–32. DOI: 10.1007/978-1-0716-1315-3_1
9. Shoeva O. Y., Dobrovolskaya O. B., Leonova I. N., Salina E. A., Khlestkina E. K. The B-, G- and S-genomic Chi genes in family Triticeae // Biologia Plantarum. 2016. Vol. 60, № 2. P. 279–284. DOI: 10.1007/s10535-016-0595-5
10. Weyen J. Applications of doubled haploids in plant breeding and applied research // Doubled haploid technology: volume 1: general topics, alliaceae, cereals. 2021. P. 23–39. DOI: 10.1007/978-1-0716-1315-3_2

Поступила: 17.12.24; доработана после рецензирования: 28.01.25; принята к публикации: 28.01.25.

Критерии авторства. Авторы статьи подтверждают, что имеют на статью равные права и несут равную ответственность за плагиат.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Авторский вклад. Петраш Н. В. – постановка цели и задач исследования, сбор и анализ литературных данных, проведение лабораторных и полевых исследований, анализ данных и их интерпретация, подготовка рукописи; Орлова Е. А. – проведение лабораторной оценки устойчивости растений к бурой ржавчине, анализ данных и их интерпретация, подготовка рукописи.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.