НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНА УСТАНОВА «ІНСТИТУТ ХАРЧОВОЇ БІОТЕХНОЛОГІЇ ТА ГЕНОМІКИ НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ»

КОЗУБ НАТАЛІЯ ОЛЕКСАНДРІВНА

УДК 575+577.1: 633.1

РІЗНОМАНІТНІСТЬ ТА ЕФЕКТИ КЛАСТЕРІВ ПРОЛАМІНОВИХ ГЕНІВ *TRITICUM AESTIVUM* L. ТА СПОРІДНЕНИХ ВИДІВ

03.00.22 – молекулярна генетика

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора біологічних наук

Київ – 2021

Дисертацією є рукопис
Роботу виконано у Інституті захисту рослин Національної академії аграрних наук України та Державній установі «Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії наук України»

Науковий консультант: доктор біологічних наук, професор,
академік НАН України
Блюм Ярослав Борисович,
Державна установа «Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії наук України», директор, завідувач відділу молекулярної геноміки та біотехнології

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, старший науковий співробітник
Дубровна Оксана Василівна,
Інститут фізіології рослин і генетики НАН України, провідний науковий співробітник відділу генетичного поліпшення рослин

доктор біологічних наук, професор,
Дробик Надія Михайлівна,
Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка, декан хіміко-біологічного факультету

доктор біологічних наук, старший науковий співробітник
Волкова Наталія Едуардівна,
Товариство з обмеженою відповідальністю «Котекна Україна Лімітед», заступник начальника відділу молекулярної генетики та фітосанітарної експертизи

Захист дисертації відбудеться 6 квітня 2021 року об 11.00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д26.254.01 ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України» за адресою: 04123, м. Київ, вул. Осиповського, 2а.
Тел/факс: (044) 434 37 77, e-mail: d26.254.01@ukr.net

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України» за адресою: 04123, м. Київ, вул. Осиповського, 2а

Автореферат розіслано «_____» березня 2021 року

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради,
к.б.н., доцент Н.Л. Пастухова

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. Проламіни (мономерні білки гліадини і полімерні глютеніни) є основними запасними білками зерна пшениці та інших видів триби Triticeae (Shewry, 2019). Запасні білки були першими високополіморфними генетичними маркерами, що використовувались для дослідження різноманітності культивованих і дикорослих видів Triticeae (Созинов, 1985; Nevo et al., 2002) та не втратили свого значення, незважаючи на появу великої кількості різноманітних ДНК-маркерів. Проламінові локуси містять кластери генів, причому в основних проламінових локусах хромосом першої гомеологічної групи власне проламінові гени розміщені нерівномірно («острівками») та перемежовуються з іншими генами, зокрема з генами стійкості до хвороб в локусах *Gli-1/Glu-3* (Wicker et al., 2003; Gao et al., 2007; Dong et al., 2010; Anderson et al., 2012). Блоки запасних білків є маркерами кластерів генів, розміщених на достатньо великій ділянці хромосоми – до 3100 т.п.н. для проламінових локусів *Gli-1/Glu-3* на 1DS *Aegilops tauschii* Coss. (Anderson et al., 2012), для їхньої ідентифікації недостатньо аналізу за одним ПЛР-маркером. Тому аналіз запасних білків електрофорезом у поліакриламідному гелі залишається найбільш ефективним методом аналізу різноманітності гліадинів та високомолекулярних субодиниць глютенінів при значних обсягах генотипів, що досліджуються (Metakovsky et al., 2018; Branlard et al., 2020). Визначальна роль у дослідженні різноманітності та генетичного контролю гліадинів пшениці належить науковій школі О.О. Созінова (Созинов и др., 1978; Рыбалка и Созинов, 1979; Созинов и Попереля, 1979; Собко, 1984; Собко та Попереля, 1986; Metakovsky, 1991), глютенінів – дослідженням Пейна (Payne, 1987). На основі численних досліджень було показано, що групи сортів пшениці м`якої, створених у різних селекційних центрах або країнах, мають характерний набір проламінових алелів (кластерів проламінових генів), що є результатом добору в специфічних ґрунтово-кліматичних умовах певного регіону (Sozinov et al., 1999; Metakovsky et al., 2018). Було виявлено зміни з часом в частотах і наборі переважних алелів локусів запасних білків, зокрема для ярих сортів пшениці м'якої різних країн та регіонів (Metakovsky et al., 2019). Для українських сортів певних селекційних центрів було проаналізовано зміни з часом у складі алелів запасних білків для сортів, створених до 1996 р. (Sozinov et al., 1999). Актуальним завданням було продовження таких досліджень – дослідження появи нових невипадкових поєднань алелів цих локусів та змін частот алелів у зв'язку з глобальним потеплінням, про яке свідчить поступове збільшення середньорічної температури повітря в Україні (Boychenko et al., 2016). Для гексаплоїдних (BBAADD) і тетраплоїдних пшениць (BBAA) було показано існування спільних алелів локусів *Glu-A1, Glu-B1, Gli-A1* (Xu et al., 2009; Metakovsky, 2015), тоді як для локусу *Gli-B1* повідомлялось про відсутність таких алелів (Метаковский, 2015), за винятком алеля *d*. Тому дослідження колекцій різних видів гексаплоїдних і тетраплоїдних пшениць та тритикале, крім аналізу різноманітності алелів запасних білків, дає можливість перевірки існування спільних алелів, у першу чергу, локусу *Gli-B1,* у гексаплоїдних і тетраплоїдних пшениць.

Згадана вище структура основних проламінових локусів (кластерна організація, нерівномірне розміщення генів), зокрема *Gli-1/Glu-3,* визначає механізми утворення

великої різноманітності алелів – через внутрішньолокусну рекомбінацію та мутації в окремих генах кластеру (Метаковский, 2015). Дослідження внутрішньолокусної рекомбінації дає змогу, крім отримання нових варіантів алелів, вивчати порядок розміщення генів у проламіновому кластері. До джерел нових проламінових алелів у генофонді пшениці м`якої можна віднести також інтрогресію. Ще в перші каталоги гліадинових алелів (Созинов и Попереля, 1979; Созинов, 1985) було включено алель, кодований блоком GLD 1B3, який пізніше назвали *Gli-B1l* (Metakovsky, 1991) – маркер пшенично-житньої транслокації 1BL.1RS. Транслокація 1BL.1RS від жита Petkus є найбільш поширеною чужиною інтрогресією серед комерційних сортів (Rabinovich, 1988; Schlegel, 2016), однак ефекти її присутності в геномі пшениці залишаються недостатньо вивченими – про це свідчать неоднозначні висновки про її вплив на урожайність в різних публікаціях. Крім того, перспективним напрямком є створення пшенично-житніх транслокацій з 1RS від інших сортів жита та рекомбінантних транслокацій (Molnár-Láng et al., 2010; Lu et al., 2014; Ren et al., 2018; Szakács et al., 2020) як носіїв нових генів стійкості до збудників хвороб та їхніх нових поєднань. Зручними генетичними маркерами для пошуку таких нових транслокацій можуть бути алелі проламінових локусів жита – секалінів у поєднанні з гліадиновими алелями для визначення положення транслокації. Омега-секаліни кодуються локусом *Sec-1* на плечі 1RS (Shewry et al., 1984), він також позначається *Gli-R1* (Carrillo et al., 1992; McIntosh et al., 2013). Останнє позначення локусу може свідчити про гомеологічність цього локусу гліадиновим локусам пшениці *Gli-1*, що, як виявилось, не відповідає дійсності (Rogowsky et al., 1991; Lukaszewski, 2000). За припущенням Lukaszewski (2000) локус *Sec-1* (*Gli-R1*) може бути гомеологічним «пшеничним» локусам *Gli-3*. Це вказувало на необхідність подальшого вивчення генетичного контролю секалінових компонентів електрофоретичного спектру.

Актуальним напрямком збагачення генофонду пшениці новими генами, що впливають на якість зерна, є інтрогресії алелів високомолекулярних субодиниць глютенінів від егілопсів (Zhou et al., 2016; Garg et al., 2016; Wang et al., 2018). Одним з таких видів є тетраплоїдний вид *Aegilops biuncialis* Vis., поширений на Кримському півострові (van Slageren, 1994). Поліморфізм проламінових локусів цього виду залишався не вивченим.

У природі основна роль запасних білків – забезпечення рослини поживними речовинами при проростанні зерна (Pernollet and Mosse, 1983). Важливість дослідження різноманітності запасних білків визначається такими практичними питаннями – 1) запасні білки безпосередньо визначають хлібопекарну якість зерна, різні алельні варіанти пов`язані з різним рівнем якості (Payne, 1987, Branlard et al., 2020); 2) певні проламінові алелі пов`язані з генами стійкості до хвороб та шкідників в ген-багатих ділянках (Sourdille et al., 1999; Dilbirligi et al., 2004; Gao et al., 2007); запасні білки викликають целіакію у чутливих людей та окремі групи проламінів – різні види алергії (Waga et al., 2013; Sharma et al., 2020); 4) гліадин розглядається як перспективний агент у фармацевтиці для доставки терапевтичних агентів через гліадинові наночастинки (Mehanna and Mneimneh, 2020). Важливість дослідження різноманітності запасних білків та вказані вище недостатньо вивчені питання зумовили вибір теми досліджень, формулювання мети та завдань даної роботи.

Зв‘язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Роботу виконано у відповідності з тематиками фундаментальних робіт Інституту агроекології і біотехнології Української академії аграрних наук (ІАБ) у рамках Проблеми «Теоретично обґрунтувати і застосувати на практиці засоби та методи генетики, екології та біотехнології для цілеспрямованого формування генетичної компоненти та біорізноманітності сталих агроекосистем» (№ ДР 0101U003297, 2001-2004 рр.), за проектами ІАБ з МОНУ «Популяційно-генетична структура диких і культурних видів рослин СНД» (№ ДР 0198U003634, 1998-2003 рр.), «Отримання дигаплоїдних ліній м’якої пшениці методикою схрещування з кукурудзою та дослідження грецьких дигаплоїдних ліній за допомогою молекулярних маркерів» (№ ДР 0101U007233, 2001-2004 рр.), у рамках бюджетних НДР Державної установи «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України» «Вивчення біорізноманітності егілопсів та пшениць за допомогою молекулярно-генетичних маркерів», № ДР 0107U003582, 2007-2011 рр.), «Дослідження впливу гамма-опромінення на генетичну структуру гібридних популяцій пшениці з використанням молекулярно-генетичних маркерів» (№ ДР 0110U000249, 2010-2012 рр.), «Дослідження генетичних ресурсів дикого родича пшениці *Aegilops biuncialis* та створення генетичної колекції, що репрезентує його різноманіття за молекулярно-генетичними маркерами» (№ ДР 0112U001598, 2012-2017 рр.), «Ефекти гамма-опромінення гібридного матеріалу пшениці на ознаки продуктивності та частоту мутацій за маркерними локусами» (№ ДР 0113U004048, 2013-2015 рр.), «Ідентифікація та дослідження матеріалу *Triticum aestivum* L. з інтрогресіями від *Aegilops biuncialis* Vis.» (№ ДР 0117U000910, 2017-2020 рр.), «Дослідження мутацій в гліадинкодуючих локусах та їх ефектів на прояв господарчо-важливих ознак пшениці м`якої (*Triticum aestivum* L.)» (№ ДР 0119U101720, 2019–2020 рр.), Інституту захисту рослин Національної академії аграрних наук України «Визначення впливу на фенотип інтрогресій в геномі м'якої пшениці та дослідження за маркерними локусами диких родичів пшениці як потенційного джерела генів стійкості» (№ ДР 0106U002708, 2006-2010), «Ідентифікувати генофонд м'якої пшениці (*Triticum aestivum* L.), тритикале (х *Triticosecale* Wittmack.) та видів роду *Aegilops* L. за допомогою генетичних маркерів» (№ ДР 0106U004932, 2006-2010 рр.), «Ефекти присутності інтрогресій в геномі пшениці та її різноманіття за маркерними локусами та генами стійкості» (№ДР 0111U004582, 2010-2015 рр.), «Ідентифікація нових алелів локусів запасних білків в генофонді м`якої пшениці та її родичів» (№ ДР 0111U004591, 2010-2015 рр.), «Дослідження генів стійкості до хвороб та шкідників у пшениці та інших сільськогосподарських культур з використанням молекулярно-генетичних маркерів» (№ ДР 0116U003523, 2016–2020 рр.).

Мета і завдання досліджень. Метою роботи була характеристика різноманітності кластерів проламінових генів (алелів) колекцій *Triticum aestivum* L. та її культивованих і дикорослих родичів, дослідження ефектів присутності певних алелів та ролі рекомбінації, мутацій і інтрогресій у збільшенні їхньої різноманітності.

Для досягнення цієї мети було поставлено такі завдання:

– розробити методику електрофорезу гліадинів у поліакриламідному гелі в кислому середовищі, що забезпечує високу роздільну здатність і є простою та відтворюваною;

– визначити генотипи за проламіновими локусами колекцій українських та грецьких сортів сортів *T. aestivum*, проаналізувати показники генетичної різноманітності колекцій; зміни частот алелів у різні періоди селекції, невипадкові асоціації алелів локусів запасних білків і генів стійкості до збудників хвороб, визначених з використанням ДНК-маркерів;

– провести аналіз генотипів за проламіновими локусами сортів і місцевих популяцій *T. durum*, гексаплоїдного тритикале, колекцій *T. spelta, T. dicoccum*, визначити показники генетичної різноманітності колекцій за даними локусами; порівняти алельний склад за проламіновими локусами досліджених видів;

– дослідити генотипи нащадків після гамма-опромінення сухих зерен *T. aestivum* для оцінки частоти появи мутацій за гліадиновими локусами та розмножити генотипи з мутантними алелями;

– провести аналіз гібридного матеріалу від схрещування сортів і ліній пшениці для визначення генетичного контролю проламінових компонентів; провести маркерний добір генотипів для створення ліній *T. aestivum* з новими алелями запасних білків та бажаними поєднаннями алелів; оцінити ефекти певних алелів на показники продуктивності, якості, пов'язаність з кольором колоса;

– дослідити частоту передачі транслокації 1AL.1RS типу Amigo з використанням запасних білків як генетичних маркерів у гетерозигот *T. aestivum* за цією транслокацією;

– проаналізувати вплив гамма-опромінення сухих зерен F_2 на ознаки виживаності та продуктивності різних генотипів *T. aestivum* за присутністю пшенично-житньої транслокації 1BL.1RS типу Кавказ, вплив гамма-опромінення сухих зерен F_1 на частоту передачі транслокації 1BL.1RS через гамети з використанням запасних білків як генетичних маркерів;

– дослідити ознаки продуктивності у гібридів F_1 пшениці м`якої від схрещування генотипів з 1AL.1RS типу Amigo і з 1BL.1RS типу Кавказ; створити популяцію рекомбінантно-інбредних ліній (РІЛ) *T. aestivum* покоління F_6 від такого схрещування, провести генотипування РІЛ за локусами запасних білків для пошуку ліній з рекомбінантними плечима 1RS;

– зібрати матеріал *Dasypyrum villosum* з популяцій Кримського півострова та дослідити різноманітність популяцій за локусами запасних білків;

– зібрати колекцію зразків з різних популяцій *Ae. biuncialis* Кримського півострова, провести схрещування *Ae. biuncialis* і гібридологічний аналіз зерен F_2 для визначення генетичного контролю проламінових компонентів, ідентифікувати алелі локусів високомолекулярних субодиниць глютенінів *Glu-U1*, *Glu-M^b1* і локусів гліадинів *Gli-U1, Gli-M^b1 Ae. biuncialis*; проаналізувати вибірки зразків з різних популяцій Кримського півострова, за проламіновими локусами, дослідити показники різноманітності і популяційну структуру *Ae. biuncialis*; оцінити зразки *Ae. biuncialis* за швидкістю виколошування; створити і зареєструвати в НЦГРРУ колекцію зразків *Ae. biuncialis* за алелями локусів запасних білків *Glu-U1, Glu-M^b1*, *Gli-U1, Gli-M^b1;*

– провести схрещування пшениці м`якої з кримськими зразками *Ae. biuncialis* та відібрати лінії з інтрогресіями алелів запасних білків; дослідити особливості їхнього успадкування та ефекти на якість зерна.

**Об`єкт дослідження** – різноманітність кластерів проламінових генів (алелів проламінових локусів) пшениці м`якої та споріднених видів та ефекти певних алелів.

Предмет дослідження – ідентифікація алелів проламінових локусів пшениці м`якої та споріднених видів, генетичний контроль проламінових компонентів, внутрішньолокусна рекомбінація, частоти мутацій за гліадиновими локусами, ефекти присутності пшенично-житніх транслокацій з участю плеча 1RS та певних проламінових алелів у геномі пшениці, популяційна структура та показники різноманітності колекцій пшениці м`якої та споріднених видів за проламіновими локусами.

Методи дослідження. Молекулярно-генетичні (виділення білків, виділення ДНК, ПЛР-ампліфікація, електрофорез проламінів у поліакриламідному гелі (ПААГ) у кислому середовищі, електрофорез білків у ПААГ у присутності додецилсульфату натрію (SDS), електрофорез ДНК в агарозному гелі), гібридизація рослин, генетичний аналіз, маркерний добір, статистичний аналіз даних.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше ідентифіковано низку нових алелів проламінових локусів. У пшениці м`якої ідентифіковано нові алелі локусів запасних білків: *Gli-B1fg*, Gli-A1ag, Glu-B1er* (рекомбінантного походження); *Gli-B1b1** (мутантного походження); *Gli-B1x* та *Gli-A3e,* (останні два алелі також ідентифіковано *у T. dicoccum*)*;* два рекомбінантні алелі локусу *Gli-D1* з участю генів *T. aestivum* і *Ae. cylindrica*; алель *Gli-B1bLast* у сорту Ластівка одеська (рекомбінантно-інтрогресивне походження); індуковані і спонтанні мутації алеля *Gli-B1b*, пов'язані з втратою одного або двох компонентів гліадинового блоку, кодованого цим алелем; індукована мутація алеля *Gli-B1l* (у складі транслокації 1BL.1RS), пов`язана зі зміною рухливості секалінового компонента, спонтанна мутація алеля *Gli-B1l,* пов'язана з підсиленим синтезом секалінового компонента.

Вперше ідентифіковано новий секаліновий локус *Sec-N* на житньому плечі 1RS, його картовано дистально від локусу *Sec-1* на відстані, в середньому, 15 сМ та визначено його алелі.

Для груп українських сортів пшениці м`якої зони Степу і Правобережного Лісостепу вперше виявлено поступові зміни з часом частот деяких алелів локусів запасних білків, які корелюють з підвищенням середньорічної температури повітря. Вперше виявлено невипадкові асоціації певних алелів гліадинових локусів та ДНК-маркерів генів стійкості проти збудників хвороб у групі українських озимих сортів пшениці м`якої. Вперше показано наявність спільних алелів локусу *Gli-B1* у *T. aestivum, T. spelta, T. dicoccum, T. durum*. Вперше виявлено, що переважні алелі локусу *Gli-B1* пов'язані з приналежністю *T. dicoccum* до певного підвиду: алель *Gli-B1h* і споріднені алелі (*ha*, hb*, hs**) є переважними у групі європейських полб, *Gli-B1x* – підвиду східних полб, *Gli-B1g* – для ефіопських полб.

Вперше ідентифіковано алелі запасних білків *Glu-U1*, *Glu-M^{b}1*, *Gli-U1, Gli-M^{b}1 Ae. biuncialis*; визначено генетичну різноманітність і популяційну структуру *Ae. biuncialis* Кримського півострова за цими локусами; виявлено географічну

диференціацію за швидкістю виколошування-цвітіння у *Ae. biuncialis;* створено колекцію кримських зразків *Ae. biuncialis* за різноманітністю алелів локусів запасних білків, відповідно до М-стратегії створення корової колекції.

Вперше ідентифіковано носіїв пшенично-житньої транслокації 1AL.1RS від жита Insave типу Amigo серед сортів пшениці м`якої української і російської селекції, транслокацію 1BL.1RS з секаліновими алелями локусів *Sec-1* та *Sec-N* типу Amigo у угорського сорту MV Táltos, створено лінію CWX з 1BL.1RS з секаліновими алелями від жита Воронезьке СГІ, ідентифіковано транслокацію 1BL.1RS з новими секаліновими алелями у сорту Вишиванка, створено популяцію рекомбінантно-інбредних ліній пшениці з рекомбінантними плечима 1RS у складі транслокацій 1AL.1RS типу Amigo та 1BL.1RS типу Кавказ, промаркованими секаліновими локусами.

Вперше визначено частоту мутацій гліадинових локусів, індуковану гамма-опроміненням сухих зерен пшениці м`якої дозою 200 Гр, яка складає 7,4%.

Вперше виявлено такі ефекти наявності транслокації 1BL.1RS від жита Petkus типу Кавказ: залежність здатності до перехресного перезапилення у пшениці м`якої від дози транслокації 1BL.1RS; відносне збільшення частоти чоловічих гамет з 1BL.1RS, які взяли участь у формуванні зернівок $F_2$, порівняно з контролем, після гамма-опромінення зерен $F_1$ пшениці м`якої, гетерозиготних за 1BL.1RS; у варіанті з гамма-опроміненням сухих зерен пшениці м`якої у дозі з рівнем зниження виживаності 20–30% найменше знижує ознаки продуктивності відносно свого значення у контролі гомозигота за 1BL.1RS, порівняно з гетерозиготою і гомозиготою без транслокації. Вперше показано, що для транслокації 1AL.1RS типу Amigo пшениці м`якої не є характерною знижена частота передачі через гамети у гетерозигот за її присутністю. Вперше визначено частоту рекомбінації між 1RS у складі транслокацій 1AL.1RS та 1BL.1RS (7 % за *Sec-1*) у гібридів пшениці м`якої.

Вперше встановлено генетичну відстань між групами генів локусу *Gli-D1 Aegilops cylindrica* та зчеплення окремих груп генів цього локусу з кольором колоса.

Вперше створено лінії пшениці м`якої з алелями локусів *Glu-U1* і *Gli-U1* від кримських зразків *Ae. biuncialis* і показано позитивний вплив алеля *Glu-U1b* на показник якості. Вперше визначено частоту розщеплення по центромері у гібридів пшениці м`якої, моносомних за хромосомою 1U *Ae. biuncialis* (9%), та виявлено більшу частоту втрати пліч 1US, ніж 1UL.

Вперше запропоновано аналіз ω-гліадинів на SDS-електрофореграмі як маркер *Gli-V1* для дослідження популяцій *D. villosum*, та визначено показники різноманітності за локусами *Glu-V1* та *Gli-V1* кримських популяцій *D. villosum*.

Практичне значення отриманих результатів. Зразки *Ae. biuncialis* передано в НЦГРРУ і зареєстровано під номерами UA0400157–UA0400171, UA0400187–UA0400195. Зареєстровано в НЦГРРУ генетичну колекцію *Ae. biuncialis* «Колекція зразків *Aegilops biuncialis* Vis. за алелями локусів запасних білків *Glu-U1, Glu-M^{b}1*, *Gli-U1, Gli-M^{b}1»,* Свідоцтво № 262 від 20 лютого 2017 р. Озимі лінії пшениці м`якої, з транслокацією 1BL.1RS типу Кавказ, зчепленою з алелем *Glu-B1al,* використовуються в селекційній роботі наукових установ України.

Особистий внесок здобувача. Дисертація є самостійною науковою працею, в якій висвітлені власні результати дослідження автора, що дали змогу вирішити поставлені завдання. Безпосередньо автором розроблено концепцію і структуру роботи, здійснено інформаційний пошук та аналіз літературних даних за темою дисертації, лабораторні і польові дослідження, зокрема, підбір та створення матеріалу дослідження (гібридизація, вирощування рослинного матеріалу, збір зразків дикорослих видів), розробка методики електрофорезу гліадинів, ідентифікація алелів маркерних локусів, аналіз даних, формулювання узагальнень та висновків. Обговорення наукових результатів при підготовці публікацій проводилось разом з науковим консультантом д.б.н. професором Я.Б. Блюмом. Співавторами наукових праць є науковий консультант та науковці, спільно з якими проведено дослідження. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертантові належить фактичний матеріал і основний творчий доробок. Усі наукові узагальнення, положення, результати та висновки, викладені у дисертації, сформульовано автором особисто.

Апробація результатів дисертації. Основні результати роботи викладено та обговорено на наукових конференціях: міжнародна конференція «Фактори експериментальної еволюції організмів» (Алушта, 25-28 вересня 2006 р., 22-26 вересня 2008 р., 21-25 вересня 2009 р., 20-24 вересня 2010 р., 26-30 вересня 2011 р., 23-27 вересня 2013 р.; Умань, 22-26 вересня 2014 р., 2–6 жовтня 2017 р.; Чернівці, 14–18 вересня 2015 р.; Одеса, 12–16 вересня 2016 р.; Яремче, 17–21 вересня 2018 р., Київ, 15–20 вересня 2019 р.), міжнародна науково-практична конференція «Інтегрований захист рослин. Проблеми та перспективи» (Київ, 13–16 листопада, 2006 р.), з`їзд Українського товариства генетиків і селекціонерів ім. М.І. Вавилова (Алушта, 24-28 вересня 2007 р., 24–28 вересня 2012 р.), 8th International Wheat Conference (St. Petersburg, Russia, 1–4 June 2010), міжнародна науково-практична конференція «Modern biotechnology of agricultural plants and biosafety» (Одеса, 7–10 вересня 2010 р.), Международная научно-практическая конференция, посвященная 35-летию образования Белгородского научно-исследовательского института сельского хозяйства (Бєлгород, 15–16 липня 2010 р.), Всероссийская научно-практическая конференция БелНИИСХ Россельхозакадемии (Бєлгород, 12–13 липня 2012 р.), міжнародна наукова конференція «Генетика і селекція: досягнення та проблеми» (Умань, 18-20 березня 2014 р.), міжнародна науко-практична конференція «Екологічна безпека та збалансоване природокористування в агропромисловому виробництві» (Київ, 1–3 липня 2015 р.), міжнародна науково-практична конференція «Світові рослинні ресурси: стан та перспективи розвитку» (Київ, 3 листопада 2016 р., 7 червня 2017 р., 7 червня 2018 р., 7 червня 2019 р.), міжнародна конференція «Сучасні напрями селекційного удосконалення пшениці» (Одеса, 1-3 червня 2016 р.), міжнародна наукова конференція «Селекційно-генетична наука і освіта» (Умань, 18-20 березня 2016 р., 15-17 березня 2017 р., 19-21 березня 2018 р., 18-20 березня 2019 р., 18-20 березня 2020 р.), міжнародна наукова конференція «Біотехнологія – іноваційний шлях розвитку селекції рослин», (Одеса, 8-10 жовтня 2018 р.), Всеукраїнська науково-практична конференція «Генетика і селекція в сучасному агрокомплексі» (Умань, 26 червня 2018 р., 26 червня 2019 р., 15 жовтня 2020 р.), міжнародна наукова конференція «Підвищення ефективності селекції і рослинництва

у сучасних умовах» (Харків, 3–5 липня 2019 р.), міжнародна науково-практична конференція «Еколого-генетичні аспекти в селекції польових культур в умовах змін клімату» (Полтава, 18–19 квітня 2019 р.), міжнародна наукова конференція «Наукові читання до 100-річчя від дня народження професора Івана Вікторовича Яшовського» (Чабани, 14–15 серпня 2019 р.), міжнародна наукова конференція «Сучасні проблеми генетики, біотехнології і біохімії сільськогосподарських рослин» (Одеса, 21 жовтня 2020 р.).

Публікації. За результатами дисертаційної роботи опубліковано 86 наукових праць, з них 42 статті у фахових і міжнародних виданнях, 19 статей у наукових збірниках і журналах, 2 розділи у монографіях, 23 тези у матеріалах всеукраїнських та міжнародних конференцій і з'їздів.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 716 сторінках машинописного тексту, складається зі вступу, 7 розділів, висновків, списку використаних джерел та 14 додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 475 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 145 таблицями, 136 рисунками. Список використаних джерел містить 649 найменувань, з них 526 латиницею та 123 кирилицею.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

В огляді літератури розглянуто класифікацію запасних білків пшениці, особливості будови різних груп проламінових білків (високомолекулярні проламіни, багаті на сірку проламіни та бідні на сірку проламіни), генетичний контроль проламінів пшениці та жита, результати досліджень структури проламінових локусів. Проаналізовано інформацію про різноманітність проламінових алелів у пшениці м`якої та споріднених видів, каталоги проламінових алелів, механізми утворення нових алелів, пов'язаність алелів проламінових локусів запасних білків пшениці з технологічними властивостями зерна, зчеплення проламінових локусів з генами стійкості до збудників хвороб, морфологічних ознак, QTL агрономічно-важливих ознак. Зведено дані про вплив інтрогресованих алелів локусів запасних білків на хлібопекарну якість. Розглянуто результати дослідження різноманітності колекцій пшениці м`якої та споріднених видів за проламіновими локусами. Окремий розділ стосується аналізу досліджень пшенично-житніх транслокацій з участю плеча 1RS та збільшення їх різноманітності.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Рослинний матеріал. Колекції українських сортів пшениці м`якої озимої: 128 сортів селекційних установ зони Правобережного (Центрального) Лісостепу України (Миронівського інституту пшениці ім. В.М. Ремесла НААН (МІП), Інституту фізіології рослин і генетики НАН України (ІФРіГ), Білоцерківської дослідної станції Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН (БЦДС)); сорти зони Степу України (сорти селекції Селекційно-генетичного інституту (СГІ) (м. Одеса) (167 сортів), ПСДСП «БОР» (3)), сорти Інституту рослинництва ім. В.Я. Юр`єва НААН (ІР) (23), Національного наукового центру «Інститут землеробства» НААН

(ІЗ) (30), Полтавської державної аграрної академії (ПДДА) (19), та група сортів, створених в інших селекційних установах Сходу та Півдня України (СП) (33). Сорти МІП та СГІ було віднесено до трьох груп за часом реєстрації: до 1996 р. (1), з 1996 по 2010 р. включно (2) та після 2010 р. (3). Сорти СГІ також ділили на п`ять груп: сорти, які зареєстровано у періоди 1*-5*: до 1996 (1*), 1997-2002 (2*), 2003-2010 (3*), 2011-2014 (4*), після 2014 (5*). Також досліджували колекції сортів і ліній різного походження, серед них сорт MV Táltos та перспективні селекційні лінії МІП. Колекції зразків пшениці м`якої ярої: українські сорти з колекції Національного центру генетичних ресурсів рослин України (НЦГРРУ) (91 сорт), грецькі сорти (25) та дигаплоїдні лінії (13). Колекція грецьких сортів (10) та місцевих популяцій (16) пшениці твердої. Колекція грецьких заміщених гексаплоїдних тритикале (із заміщенням 2D/2R) (11) та зразки тритикале з НЦГРРУ (28), переважно селекції ІР. Колекція зразків *T. spelta* з НЦГРРУ, з яких 15 належать до європейських спельт і 1 – до азіатської. Колекція зразків *T. dicoccum* різного походження з НЦГРРУ (55). Майже ізогенні лінії пшениці м`якої за гліадиновими локусами (МІЛ), створені д.б.н. М.М. Копусем на основі сорту Безоста 1. МІЛ відрізняються від Безостої 1 наступними алелями: лінія В3 має пшенично-житню транслокацію 1BL.1RS, як у сорту Кавказ; лінія D4 має алель *Gli-D1j* замість *Gli-D1b*. Лінія В4 має *Gli-B1g* замість *Gli-B1b*. Лінія А1 має алель *Gli-A1m* замість *Gli-A1b*. Лінію B3D4 створено добором генотипу *Gli-B1l Gli-D1j* серед рослин F_2 від схрещування МІЛ D4 × В3.

Гібридний матеріал пшениці м`якої. Вихідним матеріалом для одержання гібридів F_1 та вищих гібридних поколінь слугували сорти і лінії, зокрема, Безоста 1, МІЛ на її основі, мутанти на основі МІЛ, сорти Юннат, MV Táltos, Одеська червоноколоса, Миронівська 67, Колумбія, Смуглянка, Лелека, Золотоколоса, Ластівка одеська, Миронівська сторічна, лінії Б16, 7086 AR. Лінія Б-16 несе 1BL.1RS типу Кавказ. Лінію 7086 AR з 1AL.1RS типу Amigo створено д.б.н. О.І. Рибалкою (СГІ, м. Одеса). Зерна F_2 від схрещування сорту пшениці м'якої Альбатрос одеський з лінією О 3-2, були люб'язно надані д.б.н. О.І. Рибалкою. Лінія О 3-2, створена д.б.н О.І. Рибалкою, несе генетичний матеріал від *Ae. cylindrica* на хромосомі 1D, промаркований алелем *Gli-D1* (Рибалка та інш., 1997). Матеріалом для дослідження показників перехресного запилення, пошуку мутантних та рекомбінантних алелів, створення ліній, у яких транслокація 1BL.1RS зчеплена з *Glu-B1al*, слугували популяції рослин F_2 пшениці м'якої озимої від реципрокного схрещування Б-16 × Одеська червоноколоса, вирощені в 2003–2004 рр., м. Київ (756 рослин F_2), 2003–2004 рр., м. Одеса (940), 1999–2000 рр., м. Одеса (1329). Для дослідження ефектів гамма-опромінення сухих зерен на рівні рослин F_1 і F_2 пшениці та пошуку мутантів у нащадків використовували зерна від схрещування МІЛ D4 × В3. Сухі зерна були опромінені гамма-променями в дозі 200 Гр від джерела 60Co на установці "Исследователь" (Інститут клітинної біології і генетичної інженерії НАН України) (F_1 і F_2 для вирощування популяцій НК06, Од06, НК07). Для отримання популяцій F_2 НК08 і Од08 сухі зерна F_2 були опромінені в дозі 200 Гр на науково-технологічній установці Інституту ядерних досліджень (ІЯД) НАН України (200* Гр). Для дослідження секалінових локусів було використано лінії пшениці м`якої озимої Hostianum 273/97, Hostianum 242/97-2 (далі Н273, Н242) та зерна F_2 від їх

схрещування Н273 × Н242, створені к.б.н. І.І. Моцним (СГІ, Одеса) (Моцный и др., 2009): лінія Н242 має 1BL.1RS як у сорту Кавказ (1RS від жита Petkus), а лінія Н273 – пшенично-житнє заміщення (1B)1R від октоплоїдного тритикале АД825 (Гостіанум 237/жито Воронезьке СГІ). За допомогою маркерного добору рослин F_2 від схрещування Н273 × Н242 створено лінію CWX з 1BL.1RS та синтезом секалінів від жита Воронезьке СГІ. Для ідентифікації алеля локусу *Sec-N* у носіїв транслокації 1AL.1RS типу Amigo аналізували 94 окремі зерна F_2 від схрещування MV Táltos × CWX. Популяцію F_6 рекомбінантно-інбредних ліній (РІЛ) пшениці м`якої озимої створено від реципрокного схрещування лінії Б-16 з 1BL.1RS типу Кавказ і лінії 7086 AR з 1AL.1RS типу Amigo за традиційною схемою. Для дослідження частоти передачі 1AL.1RS типу Amigo аналізували зерна F_2 від схрещень Золотоколоса × А1 (538 зерен F_2), А1 × Смуглянка (335), реципрокних схрещень Панна × Колумбія (330), Смуглянка × Лелека (200), Смуглянка × Безоста 1 (267). Для вивчення пов'язаності локусів присутності 1AL.1RS типу Amigo з проявом ознак продуктивності аналізували рослини F_2 від реципрокного схрещування Колумбія та Панна, вирощені на дослідних ділянках в двох зонах – Лісостеп (с. Гатне, Київська обл.), зони Степу (СГІ, м. Одеса) у 2009–2010 рр. Для дослідження озерненості гібридів з двома транслокаціями аналізували рослини F_1 від реципрокного схрещування Миронівська 67 × Колумбія, Б16 × 7086 AR (2009 р.), рослини F_1 від реципрокного схрещування Миронівська 67 × 7086 AR, реципрокного схрещування Б16 × Колумбія та батьківські форми (2011 р.). Для дослідження генетичного контролю кольору колоскових лусок у *T. spelta* var. *caeruleum* з використанням гліадинів як генетичних маркерів аналізували колосся з рослин F_2 від схрещування *T. spelta* (UA0300074) × *T. aestivum* Харківська 26 (143/11), *T. aestivum* cv. Sunnan × *T. spelta* cv. Tridentina (149/11), а також BC_1 *T. spelta* (UA0300074) × *T. aestivum* Харківська 26^2 (145/11), створені в НЦГРРУ. Для уточнення ідентифікації деяких гліадинових блоків *T. dicoccum* проводили схрещування ярих зразків полби UA0300008 і UA0300192-2.

Досліджували вибірки з природних популяцій *D. villosum* Кримського півострова, зібрані в 2012 р. у двох місцевостях: Берегове, Бахчисарайського району, та Севастополь, заповідник Херсонес Таврійський. Досліджували зразки диплоїдних видів егілопсів: два зразки *Ae. umbellulata* (UU) IUO15892 і IUO15893 та два зразки *Ae. comosa* (MM) IUO15968 і IUO15969, люб`язно надані к.б.н. Р.Л. Богуславським (НЦГРРУ, м. Харків), та ще один грецький зразок *Ae. comosa* (GRC 096/92). Для ідентифікації алелів запасних білків і вивчення генетичної різноманітності *Ae. biuncialis* матеріалом дослідження слугували вибірки з природних популяцій Кримського півострова – Берегове, Піщане Бахчисарайського р-ну, Севастополь, Кара-Даг, Ечки-Даг, Мис Мартьян, Утьос, в околицях гори Аю-Даг, біля Орджонікідзе, зібрані в 1995–2012 рр. (проаналізовано 1200 зразків). Для ідентифікації алелів проламінових локусів аналізували зерна F_2 з рослин F_1 *Ae. biuncialis* від п`яти комбінацій схрещування. Для реєстрації зразків *Ae. biuncialis* та генетичної колекції, зразки егілопсів розмножували на дослідній ділянці та передавали в НЦГРРУ у кількості 50 колосів кожного.

Матеріал від гібридизації пшениці м`якої з *Ae. biuncialis.* Для схрещувань було використано сорти і лінії пшениці озимої: Безоста 1, МІЛ на її основі, Одеська

червоноколоса, лінії Б-16, 7086 AR. Як батьківський компонент використано зразки *Ae. biuncialis* з популяцій Кара-Дага. Гібриди F_1 беккросували пшеницею. Наступні покоління вирощували поруч з посівами пшениці без ізоляції. Починаючи з F_4 проводили маркерний добір за наявність проламінів від *Ae. biuncialis.* Для дослідження частоти втрати пліч хромосоми 1U у гібридів з пшеницею аналізували 459 зерен з рослин F_1 від схрещування Безоста 1 × NVG41, де NVG41 – лінія пшениці з 1U від *Ae. biuncialis*. Для дослідження показників якості зерна ліній пшениці від гібридизації з *Ae. biuncialis* з інтрогресіями 1U матеріал інтрогресивних ліній F_{10} і F_{11}, а також озимих сортів пшениці м`якої Безоста 1, Панна, було вирощено з 2–8 повтореннями на дослідній ділянці (с. Гатне, Київ. обл., урожай 2015 р., 2017 р.).

Методи дослідження. Електрофорез гліадинів проводили в 10% поліакриламідному гелі (ПААГ) в кислому середовищі за власною методикою, описаною в (Козуб и Созинов, 2000; Kozub et al., 2009). Електрофорез загального білку зерна, у тому числі високомолекулярних субодиниць глютенінів, у присутності додецилсульфату натрію (SDS) проводили за методикою Laemmli (1970). Алелі *Glu-A1, Glu-B1, Glu-D1* ідентифікували за каталогом Payne and Lawrence (1983) з поправками для алелів локусу *Glu-B1* (Wrigley et al., 2009). Алелі *Gli-A1, Gli-B1, Gli-D1* позначали на основі каталогу Metakovsky (1991) з доповненнями.

Для виділення ДНК використовували комерційний набір на основі силікату NeoPrep_100 (Неоген™, Україна). ДНК виділяли з наважок масою біля 50 мг, відібраних із суміші подрібненого матеріалу 5–10 зернівок пшениці. Для полімеразної ланцюгової реакції використовували суміш реагентів для ампліфікації ДНК PCR MIX 2x HOT (Неоген™, Україна). ПЛР проводили в термоциклері Applied Biosystems 2720 Thermal Cycler. Для дослідження локусу *Lr34/Yr18/Pm38/Sr57/Bdv1* помірної стійкості до низки біотрофних фітопатогенів було використано мультиплексну ПЛР із праймерами, що фланкують маркери *caISBP1* та *caSNP12,* за Dakouri et al. (2010) або ПЛР за Lagudah et al. (2009) з маркером *cssfr5*. Для аналізу гена *Tsn1* чутливості до токсину А збудника піренофорозу і септоріозу колоса використовували маркер *fcp623* (Faris et al., 2010). Для аналізу гена чутливості до токсину В збудника піренофорозу застосовували ПЛР із праймерами, що фланкують маркер BE444541 (Abeysekara et al., 2010). Для ідентифікації алелів гена *TDF_076_2D* помірної стійкості до збудників фузаріозу колоса використано молекулярний маркер *INDEL1* (Diethelm et al., 2014). Амплікони розділяли в 2 або 3% агарозному гелі з трис-боратним буфером із додаванням бромистого етидію (Маниатис и др., 1984). Гелі фотографували за допомогою системи для гель-документації VISION Gel.

Перехресне запилення детектували за присутністю зернівок з нетиповим генотипом за проламіновим локусом за їхнім пилковим компонентом на рослині F_2 пшениці. Для характеристики рівня перезапилення визначали наступні показники: частота перезапилення (ОС, %); частота рослин, на яких відбулося перезапилення (Ocplant, %); інтенсивність перезапилення – сумарна кількість зернівок з перезапиленням / загальна кількість зернівок, проаналізованих з рослин з перезапиленням (ОСІ, %). Для ранжування зразків *Ae. biuncialis* за часом цвітіння відмічали стан виколошування зразків на час обліку (3–4 рази в третю декаду травня – першу декаду червня): «не виколосився» (0 балів), «починає виколошуватись» – є

колоси на менше ніж половині стебел (1 бал); «виколосився» – колоси на більше половини стебел (2 бали); «цвіте» – пиляки викинуті принаймні на одному колосі (3 бали). На основі сумарного балу для кожного зразка розподіляли зразки в три групи стиглості, де 1 – найшвидше виколошування.

Оцінка кількісних показників. Показник якості Glu-score визначали на основі алелів локусів високомолекулярних субодиниць глютенінів згідно з (Payne et al., 1984b; Wrigley et al., 2009). Показники якості зерна пшениці визначали в СГІ (м. Одеса): SDS-седиментація (SDS30 за Рибалкою та інш. (2006)), виповненість зерен, твердозерність, вміст білку в зерні (на приладі Inframatic 8611).

Аналіз даних. Відповідність співвідношення класів розщеплення теоретичній моделі тестували за допомогою критерія χ^2. Частоту рекомбінації в F_2 визначали методом максимальної правдоподібності, для РІЛ – за формулою Haldane and Waddington (1931). Для аналізу відмінностей за частотами алелів між двома вибірками використовували критерій χ^2 або точний критерій Фішера. Асоціації між алелями оцінювали за допомогою коефіцієнта φ (Clark-Carter, 1997). Генетичну різноманітність за локусом розраховували за Nei (1973). Популяційну структуру сортів пшениці м`якої та *Ae. biuncialis* досліджували за допомогою програми STRUCTURE (Pritchard et al., 2000). Оптимальну кількість кластерів визначали за алгоритмом Evanno et al. (2005) за максимальною величиною ΔK з використанням вебсайту і програми STRUCTURE HARVESTER (Earl and vonHoldt, 2012). Аналіз розподілу сортів та популяцій методом головних координат, аналіз молекулярної дисперсії, аналіз кореляції географічних відстаней, розрахованих на основі географічних координат, з генетичною диференціацією за показником Джоста (Mantel-тест) проводили з використанням програми GenAlEx 6.5 (Peakall and Smouse, 2006, 2012). Дендрограми будували методом об'єднання найближчих сусідів (NJ) або UPGMA за допомогою програми MEGA (Kumar, 2018). Для аналізу кількісних ознак застосовували t-критерій Стьюдента, однофакторний дисперсійний аналіз, T-критерій Вілкоксона. Кореляцію між середніми кліматичними показниками періоду і присутністю певного алеля (при поділі на 3 періоди) або частотою алеля (при поділі на 5 періодів) рахували окремо для груп сортів МІП і СГІ за допомогою коефіцієнта рангової кореляції Спірмена ρ (Clark-Carter, 1997).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХНЄ ОБГОВОРЕННЯ
ІДЕНТИФІКАЦІЯ НОВИХ АЛЕЛІВ ЗАПАСНИХ БІЛКІВ ТА ЗБІЛЬШЕННЯ ЇХ РІЗНОМАНІТНОСТІ У ПШЕНИЦІ М`ЯКОЇ (РЕКОМБІНАЦІЯ, МУТАЦІЇ, ІНТРОГРЕСІЯ)

При аналізі гліадинових спектрів сортів і ліній пшениці м`якої ідентифіковано нові алелі локусів *Gli-A1, Gli-B1, Gli-A3*. У сортів пшениці м`якої Гном, Намисто, Престижна, LG LES 3114, Кайдашиха, Рання 93, Недра ідентифіковано алель, позначений *Gli-B1fg** (рис. 1, А), який, очевидно, є продуктом внутрішньолокусної рекомбінації алелів *Gli-B1f* та *Gli-B1b*.

У сортів пшениці м`якої Естет та Господиня миронівська ідентифіковано новий алель локусу *Gli-A1*, позначений *ag* (комбінація алелів *Gli-A1x* та *Gli-A6b*), що міг

виникнути в результаті рекомбінації (наприклад, між *Gli-A1x* та *Gli-A1f).* У біотипу сорту пшениці м`якої Одеська 267 ідентифіковано алель, позначений *Gli-B1b1**, що виник у результаті мутації гена в складі алеля *Gli-B1b*, яка призвела до більшої рухливості мінорного ω-гліадина (рис. 1, B). При аналізі сорту Славен виявлено біотипи з алелем *Gli-D1g* і з нуль-алелем за цим локусом (рис. 1, C).

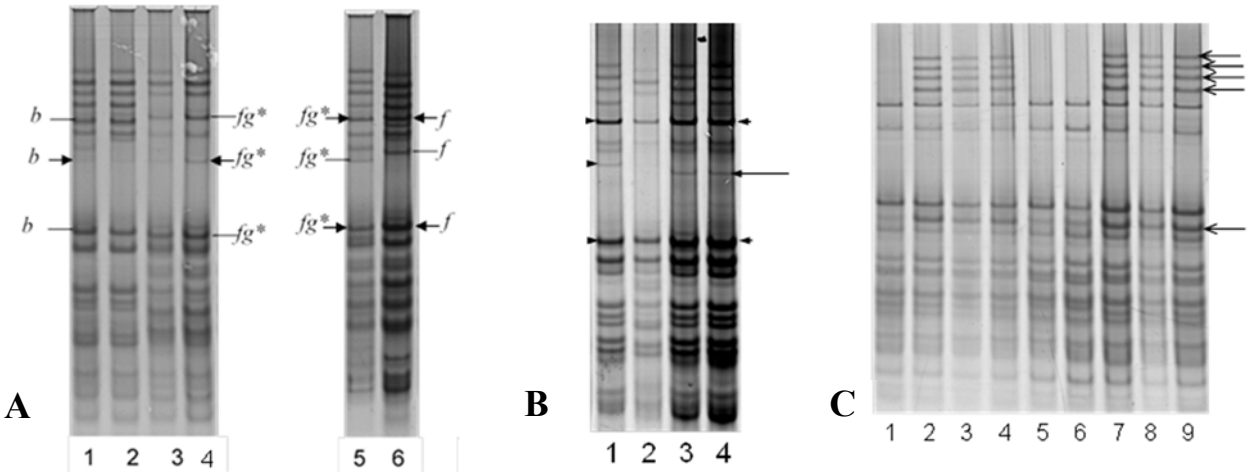

Рис. 1 Електрофореграма гліадинів сортів пшениці м`якої. **A**: 1, 2 – Миролюбна (з *Gli-B1b*); 3, 4 – Престижна (*Gli-B1fg**); 5 – Кайдашиха (*Gli-B1fg**); 6 – Намисто *Gli-B1* (*Gli-B1f*). Буквами позначено гліадини, кодовані відповідними алелями *Gli-B1***. B**: 1 – біотип сорту Одеська 267 з *Gli-B1b*, 2 – Безоста 1 з *Gli-B1b*, 3, 4 – біотип сорту Одеська 267 з *Gli-B1b1**. Короткими стрілками відмічено гліадини, кодовані *Gli-B1b,* довгою – компонент зі зміненою рухливістю, кодований *Gli-B1b1**. **C:** сорт Славен: 1, 5, 6 – біотип з нуль-алелем за *Gli-D1*; 2–4, 7–9 – біотип з *Gli-D1g.*

Новий для сортів *T. aestivum* алель *Gli-B1x* ідентифіковано у озимого сорту Миронівська 62 і біотипу сорту Миронівська сторічна (рис. 2) за допомогою гібридологічного аналізу зерен F_2 від схрещування з сортом Безоста 1 (розщеплення 43 : 99 : 36, $\chi^2 = 2{,}8$, для 1:2:1).

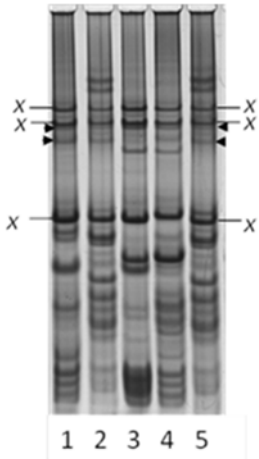

Рис. 2 Електрофореграма гліадинів сорту пшениці м`якої Миронівська сторічна (2, 5) з алелем *Gli-B1x* та зразків *T. dicoccum* з алелем *Gli-B1x*: 1 – UA0300192-1 var. *volgense*; 3 – UA0300199 var. *pseudogunbadi*; 4 – UA0300056 var. *arras* з подібними омега-гліадинами як у блоку, кодованого *Gli-B1x*, але з іншою рухливістю гамма-гліадина. Короткими стрілками позначено гліадини, кодовані алелем *Gli-A3e.*

У сорту Миронівська сторічна ідентифіковано ще один новий алель – *Gli-A3e*, що кодує два омега-гліадини (45 : 99 : 34, $\chi^2 = 3{,}6$ для 1:2:1) (рис. 2). Досі відомо було лише чотири алелі цього локусу, три з яких (*a–c*) кодують по одному омега-гліадину,

а алель *d* є нуль-алелем (McIntosh et al., 2013). *Gli-A3e* виявився поширеним серед ярих сортів пшениці м`якої (Кайдашиха, Недра, Рання 93, Краса Полісся, Елегія миронівська тощо). Алелі *Gli-B1x* та *Gli-A3e* також ідентифіковано *у T. dicoccum;* не виключено, що *Gli-B1x* у *T. aestivum* має інтрогресивне походження від схрещення з полбою.

У результаті аналізу зерен з рослин F_2 від схрещування Юннат × Б-16 (380 рослин) і зерен F_2 від схрещування D4 × B3 (4094 зерен) виявлено алелі локусу *Gli-D1,* що є результатом рекомбінації у гібридів F_1, та встановлено генетичну відстань 0,65 ± 0,18 сМ між групами генів локусу *Gli-D1* – геном, що кодує ω-гліадин j_5 блоку "*j*", і генами, що кодують решту ω-гліадинів (j_{1-4}), цього алеля (рис. 3).

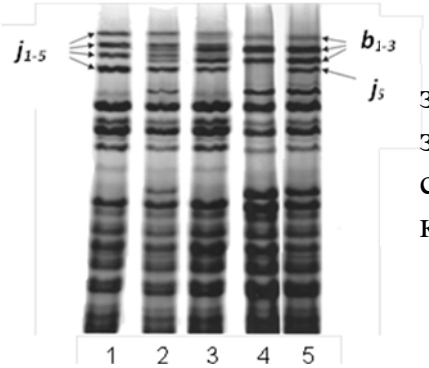

Рис. 3 Електрофоретичні спектри гліадинів зернівок F_2 від схрещування D4 × B3: 1 – генотип "*j.j*" за *Gli-D1*; 2, 3 –"*j.b*",; 4 – "*b.b*"; 5 – рекомбінантний спектр "b^R". Стрілками позначено омега-компоненти, кодовані *Gli-D1j* і *Gli-D1b*.

При аналізі генотипів 505 рослин F_2 від схрещування сорту Альбатрос Одеський з лінією О 3-2 виявлено рекомбінацію між компонентами алеля локусу *Gli-D1* від *Ae. cylindrica* та алеля *Gli-D1* м'якої пшениці та ідентифіковано два рекомбінантні алелі локусу *Gli-D1* з участю генів *T. aestivum* і *Ae. cylindrica* (рис. 4). Лінія з рекомбінантним блоком гліадинів від *Ae. cylindrica,* що містить омега-гліадини cl_1-cl_3 та не має cl_4 і cl_5 (алель "*co*" *Ae. cylindrica*) (рис. 4, доріжка 3) мала темні колоскові луски (маркер гена *Rg-D1c*.)

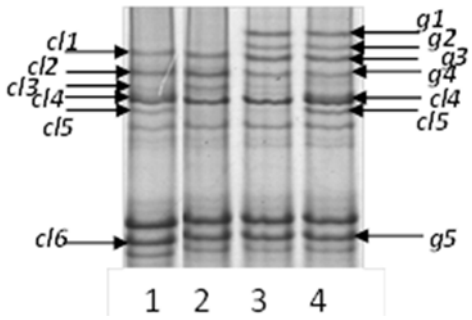

Рис. 4 Фрагмент електрофореграми (зона омега і гамма-гліадинів) гліадинів зернівок, що несуть такі алелі за локусом *Gli-D1*: 1 – з алелем *Gli-D1cl* від *Ae. cylindrica* (кодує компоненти *cl1-cl6*); 2, 4 – рекомбінантні алелі; 3 – алель *Gli-D1g* від *T. aestivum* (кодує компоненти *g1-g5*).

Визначено відстань 0,27 ± 0,14% сМ між групами генів алеля *cl* локусу *Gli-D1 Ae. cylindrica* та їхнє розміщення відносно гена кольору колоскових лусок (*Rg-D1c* – *Gli-D1*cl_{1-3} – *Gli-D1*$cl_{4,5}$ – центромера). Присутність алеля *Gli-D1cl* при вирощуванні рослин F_2 в зоні Лісостепу не призводила до зниження рівня прояву ознак продуктивності.

За допомогою гібридологічного аналізу ідентифіковано алель *Gli-B1bLast* у сорту Ластівка одеська, що також має рекомбінантно-інтрогресивне походження і

містить гени від алеля *Gli-B1b* та, найбільш ймовірно, гени від *Gli-S1 Ae. variabilis* (який зазначений у родоводі цього сорту (Бабаянц, 2011)), що кодують два омега-гліадини (L1, L2 на рис. 5).

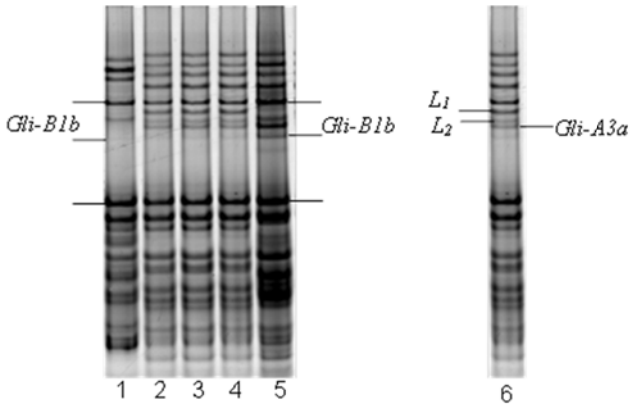

Рис. 5. Електрофореграма гліадинів сортів пшениці м`якої: 1 – Безоста 1; 2–4, 6 – Ластівка одеська; 5 – Миронівська 808. Відмічено компоненти, кодовані алелями *Gli-B1b, Gli-A3a* та омега-гліадини сорту Ластівка одеська L_1, L_2, контроль яких досліджувався.

При аналізі 2025 рослин F_2 від схрещування Одеська червоноколоса × Б16 виявлено випадки рекомбінації в локусі *Glu-B1* (між алелями *e* та *al*) з формуванням рекомбінантного алеля *Glu-B1er* (20x+8y) з частотою 0,1% та спонтанні мутанти з нуль-алелями за локусами *Gli-B1* (0,1%) та *Gli-D1* (0,05%); маркерним добором створено лінії з такими алелями.

Визначено, що частота мутацій гліадинових локусів, індукована гамма-опроміненням сухих зерен F_1 D4 × B3 дозою 200 Гр, становила 7,4%, а в контролі частота спонтанних мутацій була 0,5%. Основний тип мутацій (60%) – поява нуль-алелів. На основі такого гібридного матеріалу ідентифіковано індуковані та спонтанні мутації алелів *Gli-B1b* та *Gli-B1l* (*Gli-R1 (Sec-1*) у складі транслокації 1BL.1RS) та створено лінії з мутантними алелями (рис. 6).

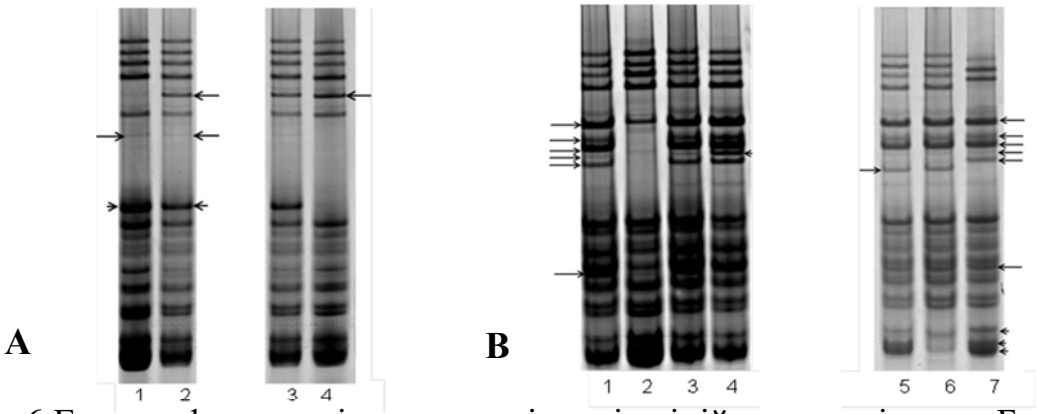

Рис. 6 Електрофоретичні спектри гліадинів ліній на основі сорту Безоста 1**. А** – з мутаціями *Gli-B1b*: 1 – мутант з відсутністю мажорного ω-гліадина; 2, 3 – лінія D4; 4 – мутант з відсутністю γ-гліадина і мінорного ω-гліадина. Довгими стрілками показано ω-гліадини, короткою **–** γ-гліадин, кодовані *Gli-B1b*. **В** – з мутаціями *Gli-B1l* (*Gli-R1* у складі 1BL.1RS): 1, 3 – лінія B3D4; 2 – мутант з нуль-алелем за *Gli-R1*; 4 – мутант з підсиленим синтезом ω-секаліна (відмічено короткою стрілкою); 5, 6 – мутант зі збільшеною рухливістю ω-секаліна; 7 – лінія B3. Довгими стрілками зліва і справа показано секаліни, кодовані *Gli-R1* (*Gli-B1l*).

Це такі мутації проламінових локусів: підсилений синтез одного компонента ω-секаліна, кодованого локусом *Gli-R1* у складі 1BL.1RS (спонтанна мутація); змінена рухливість одного компонента ω-секаліна, кодованого *Gli-R1* у складі 1BL.1RS (індукована мутація); нуль-алель за локусом *Gli-R1* у складі 1BL.1RS (спонтанна мутація); відсутність синтезу найменш рухливого інтенсивного ω-гліадина, кодованого алелем *Gli-B1b* (індукована мутація); відсутність синтезу γ-гліадина і мінорного ω-гліадина, кодованого *Gli-B1b* (спонтанна мутація) (рис. 6). Перші дві мутації в *Gli-B1l* та мутація *Gli-B1b* за відсутністю синтезу γ-гліадина і нижнього мінорного ω–гліадина виявились пов`язаними зі зменшенням твердозерності ($P < 0,05$).

З використанням аналізу проламінових локусів вперше ідентифіковано носіїв транслокації 1AL.1RS типу Amigo серед сортів *T. aestivum* української селекції (Експромт, Раставиця, Колумбія, Золотоколоса, Смуглянка та інш.), а також російської селекції (Богданка).

При аналізі спектрів загальних білків ендосперму на SDS-електрофореграмах у лінії Н273 із пшенично-житнім заміщенням (1B)1R від жита Воронезьке СГІ ідентифіковано високомолекулярний білок (мономерний секалін), позначений ‘*x*’, який був відсутній у лінії Н242, носія 1BL.1RS від жита Petkus (рис. 7). Ген, що кодує цей білок, прокартовано дистально від локусу *Sec-1* (*Gli-R1*) на відстані біля 20 сМ. Новий локус позначено *Sec-N* (рис. 7, D). Судячи з положення, *Sec-N* може бути гомеологічним локусам *Gli-1* пшениці.

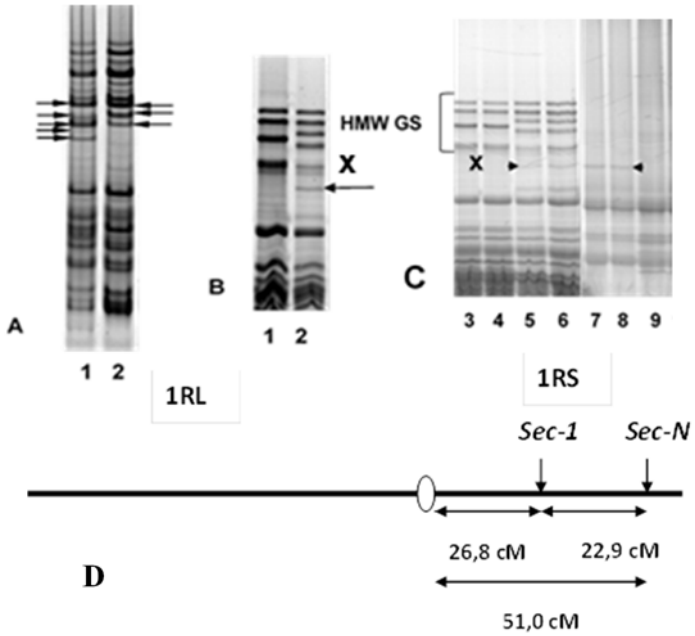

Рис. 7 Електрофореграма гліадинів в кислих умовах (**A**) та SDS-електрофореграма загального білку зерна (**B, C**) ліній пшениці м`якої з житніми інтрогресіями: 1, 5-8 – лінія Н273; 2, 3, 4, 9 – лінія Н242. ‘*x*’ – секалін, кодований *Sec-N*. **B, C**: 1–6 – відновлені 2-меркаптоетанолом; 7–9 – невідновлені 7 **D**: Схема розміщення локусів *Sec-1* (*Gli-R1*) і *Sec-N* на хромосомі 1R жита. Овалом позначено центромеру.

За допомогою гібридологічного аналізу зерен F_2 від схрещування між генотипами з 1BL.1RS з 1RS від жита Воронезьке СГІ (лінія CWX) та з 1BL.1RS від жита Insave (сорт MV Táltos з алелями секалінових локусів типу Amigo) ідентифіковано ще один алель локусу *Sec-N* – ‘*a*’ у носіїв транслокації типу Amigo: за *Sec-N* розщеплення *x.x:a.x:a.a* (24:40:30) відповідає 1:2:1 ($\chi^2 = 2,9$). Ще один алель *Sec-N*, що кодує два секаліни, несе сорт Вишиванка.

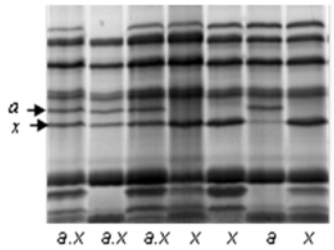

Рис. 8 SDS-електрофореграма загального білку зерен F_2 пшениці м`якої озимої MV Táltos × CWX з різними 1BL.1RS. Стрілками показано компоненти, кодовані відповідними алелями *Sec-N.*

Для одержання транслокацій з рекомбінантними плечима 1RS створено популяцію F_6 рекомбінантно-інбредних ліній пшениці від схрещування між носіями 1RS від жита Petkus та Insave у складі 1BL.1RS і 1AL.1RS (Б-16 × 7086 AR). З використанням алелів проламінових локусів ідентифіковано лінії з рекомбінантними плечима 1RS (рис. 9, табл. 1). Частота рекомбінації між 1RS у складі 1AL.1RS та 1BL.1RS становила 7 ± 1% (за *Gli-R1*). Аналіз літературних даних з розміщення генів стійкості відносно секалінових локусів (Mater et al., 2004; Mago et al., 2002, 2005; Sharma et al., 2009; Liu et al., 2014) та відстаней між секаліновими локусами *Sec-1* (*Gli-R1)* і *Sec-N* показує, що секалінові локуси *Gli-R1* і *Sec-N* фланкують ділянку, де знаходяться гени стійкості проти різних збудників іржі, борошнистої роси та ген стійкості проти кліща *Cmc3* і тому секалінові локуси можуть слугувати маркерами для первинного скринінгу ліній з новими поєднаннями генів стійкості до хвороб і шкідників на рекомбінантних транслокаціях.

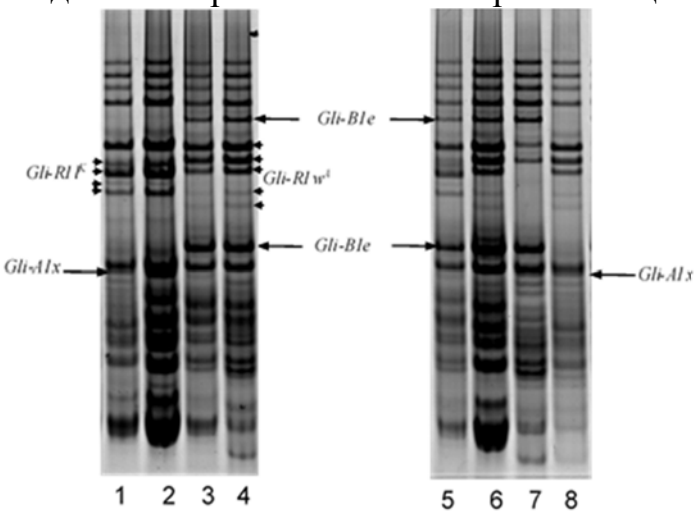

Рис. 9 Електрофореграма проламінів зернівок РІЛ F_6 Б16 × 7086 AR. 1, 2 – лінії з 1BL.1RS з блоком секалінів типу Кавказ, кодованим *Gli-R1*l^K; 3, 4, 6 –лінії з 1AL.1RS з блоком секалінів типу Amigo, кодованим *Gli-R1*w^A; 5 – лінія з рекомбінантною 1AL.1RS з секалінами типу Кавказ, кодованими *Gli-R1*l^K; 7 – лінія без транслокацій; 8 – лінія з рекомбінантною 1BL.1RS з секалінами типу Amigo, кодованими *Gli-R1*w^A.

Таблиця 1

Чисельність гомозиготних генотипів РІЛ F_6 Б16 × 7086 AR з різними алелями локусів *Gli-A1*, *Gli-B1*, *Gli-R1*

Хромосома (транслокація), локус	1B (1BL.1RS), *Gli-B1(Gli-R1)*			
1A (1AL.1RS), *Gli-A1 (Gli-R1)*	*e*	l^K	w^A	Разом
x	109	90	**13***	212
w^A	118	27	**3***	148
l^K	**25***	**6***	**-**	31
Разом	252	123	16	391

Примітка. l^K – алель типу Кавказ *Gli-R1*; w^A – алель типу Amigo *Gli-R1*, *e – Gli-B1e, x –Gli-A1x*. * – генотипи з рекомбінантним плечем 1RS

Новий алель високомолекулярних субодиниць глютенінів було інтрогресовано у *T. aestivum* від *Ae. biuncialis* (зразки з Кара-Дагу) через пряму гібридизацію і маркерний добір з використанням проламінів як генетичних маркерів (рис. 10). При цьому було виявлено високу частоту появи генотипів з лише плечем 1UL, промаркованим *Glu-U1*, але не знайдено ліній з лише плечем 1US.

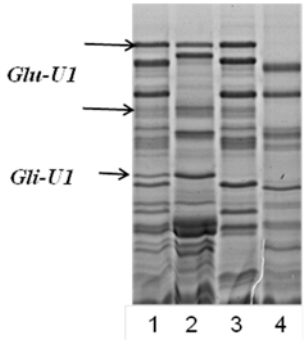

Рис. 10 SDS-електрофореграма загального білку окремих зернівок: 1 – лінія *T. aestivum* NVG41 з цілою хромосомою 1U *Ae. biuncialis*; 2 – зразок *Ae. biuncialis* NK 13-2-1 (UA0400192), 3 – інтрогресивна лінія NVG91-75 з лише плечем 1UL; 4 – сорт пшениці м`якої Безоста 1. Стрілками відмічено білки, контрольовані вказаними локусами *Ae. biuncialis*.

Аналіз зерен F_2 від схрещування між лінією з хромосомою 1U і сортом Безоста 1 показав, що причиною відсутності інтрогресивних ліній з лише плечем 1US може бути нижча частота утворення таких генотипів при поперечному розщепленні хромосоми 1U у гібридів, що виявляється уже на стадії зерен F_2 ($\chi^2 = 17,03$, $P < 0,001$). Частота поперечного розщеплення за центромерою у гібридів *T. aestivum*, моносомних за 1U *Ae. biuncialis,* складала 9,04±1,42 %. Визначено, що присутність інтрогресованого алеля *Glu-U1b* від *Ae. biuncialis* у геномі *T. aestivum* пов`язана з високим значенням показника седиментації SDS30, а ефект цього алеля є близьким до ефекту алеля *Glu-B1al* (табл. 2).

Таблиця 2

Характеристика інтрогресивних ліній і сортів пшениці м`якої за проламіновими локусами і показниками якості зерна

Лінія, сорт	*Glu-A1*	*Glu-B1*	*Glu-D1*	*Glu-U1*	*Gli-U1*	Вміст білку, %	SDS30, мл
NVG22-17	*b*	*al*	*d*	+	-	15,5 ± 0,5	92,5 ± 2,5
NVG91-75	*c*	*c*	*a*	+	-	14,8 ± 0,9	86,9 ± 2,0
NVG105-90	*c*	*c*	*a*	+	+	15,4 ± 0,2	79,0 ± 3,2
NVG105-89	*b/c*	*c*	*a*	+	-	18,5 ± 0,1	83,5 ± 10,1
NVG105-94	*c*	*c*	*a*	-	-	13,8 ± 0,40	65,75± 2,06
Панна	*b*	*al*	*d*	-	-	14,67 ± 0,69	93 ± 0
Безоста 1	*b*	*c*	*d*	-	-	13,68 ± 0,11	67,25 ± 1,31

ЕФЕКТИ ПРИСУТНОСТІ ПШЕНИЧНО-ЖИТНІХ ТРАНСЛОКАЦІЙ З УЧАСТЮ ПЛЕЧА 1RS У ГЕНОМІ ПШЕНИЦІ М`ЯКОЇ

Аналіз колекцій українських сортів пшениці м`якої показав, що частота транслокацій з участю плеча 1RS серед українських озимих сортів *T. aestivum* складає 23% і є істотно вищою, ніж серед ярих сортів – 8,8% ($P < 0,01$). У ярого сорту Вишиванка з новою транслокацією 1BL.1RS з високою ймовірністю можна очікувати,

що його 1RS несе нові гени стійкості до хвороб, оскільки вони фланкуються новими секаліновими алелями.

Виявлено низку нових ефектів присутності транслокацій з участю плеча 1RS у геномі пшениці м'якої. Визначено залежність показників перезапилення від дози житнього плеча 1RS у складі транслокації 1BL.1RS (*Gli-B1l*) (табл. 3). При цьому запропоновано нові показники оцінки перезапилення: частота рослин, на яких відбулося перезапилення (Ocplant, %), та інтенсивність перезапилення (OCI, %). Показано, що частота перезапилення у пшениці залежить, у першу чергу від умов року, і відмінності між генотипами (за дозою 1BL.1RS) за перезапиленням реалізуються тільки в сприятливих для цього умовах (посуха під час цвітіння).

Таблиця 3

Показники перезапилення у рослин F_2 від схрещування Б-16×Одеська червоноколоса з різними генотипами за *Gli-B1* (м. Київ, 2004)

Генотип	OC ± SE, %	OCplant ± SE, %	OCI ± SE, %
Gli-B1l.l.	10,88 ± 1,19	29,41 ± 3,91	31,21 ± 2,17
Gli-B1l.c.	4,86 ± 0,49	16,19 ± 1,88	24,23 ± 1,64
Gli-B1c.c.	2,19 ± 0,43	8,86 ± 1,85	20,93 ± 2,77

З використанням проламінів як генетичних маркерів на п'яти гібридних комбінаціях вперше показано що, для транслокації 1AL.1RS типу Amigo не є характерною знижена частота передачі через гамети у гетерозигот за її присутністю, на відміну від транслокації 1BL.1RS типу Кавказ. Виявлено позитивний ефект присутності транслокації 1AL.1RS типу Amigo на прояв ознак продуктивності, порівняно з наявним плечем 1AS при вирощуванні рослин F_2 від схрещування Колумбія × Панна в умовах Лісостепу ($P < 0,05$) та відсутність відмінностей у зоні Степу. Можна припустити, що присутність 1AL.1RS може підвищувати адаптивність генотипів в умовах більшого вологозабезпечення.

За допомогою аналізу генотипів за проламіновими локусами з врахуванням дози гена виявлено, що гамма-опромінення сухих зерен F_1 *T. aestivum* D4 × B3 дозою 200 Гр приводило до відносного підвищення частоти пилкових зерен з транслокацією 1BL.1RS, які взяли участь у формуванні зернівок F_2, порівняно з контролем ($\chi^2 = 7,15$, $P < 0,01$). У варіанті з гамма-опроміненням у дозі 200 Гр (або відповідній дозі за рівнем зниження виживання – 20–30%) зерен F_2 D4 × B3 найменше знижувала ознаки продуктивності відносно свого значення у контролі гомозигота за 1BL.1RS типу Кавказ, порівняно з гетерозиготою і гомозиготою без транслокації (рис. 11).

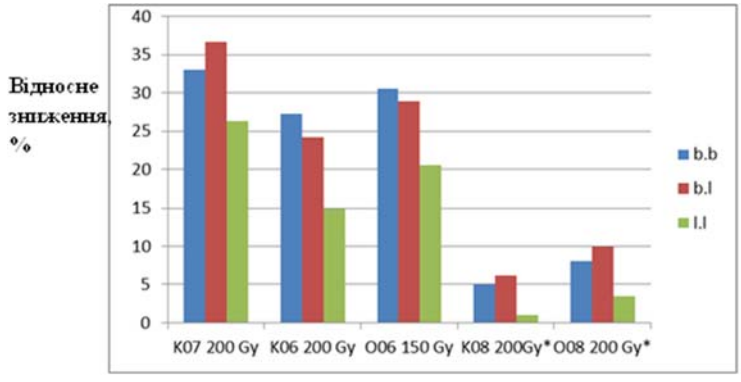

Рис. 11 Відносне зниження (% від значення у контролі) маси зерна з рослини у груп рослин F_2 з різним генотипом за локусом *Gli-B1* після гамма-опромінення сухих зерен F_1 при різних умовах вирощування (популяції К07 (НК07), К06 (НК06), К08 (НК08), О08 (Од08) – 200 Гр; популяція О06 (Од06) – 150 Гр).

Виявлено, що одночасна присутність двох транслокацій 1AL.1RS типу Amigo і 1BL.1RS типу Кавказ у гібридів *T. aestivum* призводить до зниження озерненості ($P < 0,001$), причому сорт Миронівська 67 несе фактори, які підсилюють зниження озерненості у гібридів з двома різними транслокаціями. Показано можливість гетерозису у гібридів з двома транслокаціями 1AL.1RS і 1BL.1RS (Миронівська 67 × 7086 AR), незважаючи на зниження озерненості. За допомогою маркерного добору серед нащадків Б16 × Одеська червоноколоса створено лінії пшениці м`якої озимої з транслокацією 1BL.1RS, зчепленою з алелем *Glu-B1al,* пов`язаним із високою силою тіста, та визначено, що вони мають показник SDS-седиментації на рівні сорту Безоста 1 при наявності алеля *Glu-D1d*.

РІЗНОМАНІТНІСТЬ КОЛЕКЦІЙ *T. aestivum, T. spelta, T. durum, T. dicoccum* ТА ТРИТИКАЛЕ ЗА ПРОЛАМІНОВИМИ ЛОКУСАМИ

Алелі проламінових локусів дали змогу диференціювати групи українських озимих сортів *T. aestivum* у відповідності до агрокліматичної зони створення (рис. 12). У групах цих сортів виявлено невипадкові асоціації алелів локусів *Gli-B1, Gli-A3, Gli-D1* та ДНК-маркерів генів стійкості проти збудників хвороб: гена *Lr34/Yr18/Pm38/Sr57/Bdv1* стійкості проти низки біотрофних фітопатогенів, гена *TDF_076_2D* помірної стійкості проти збудників фузаріозу колоса, гена *Tsn1* чутливості до токсинів А грибів-збудників піренофорозу та септоріозу колоса, наприклад, алеля *Gli-B1l* з алелем стійкості *Lr34 R* (φ=0,28, $P < 0,05$), а іншого переважаючого алеля *Gli-B1b* – з алелем нестійкості *Lr34 S* (φ=0,27, $P < 0,05$), Відмічено формування невипадкових асоціацій алелів локусів запасних білків у групах сортів, створених після 1996 р.: особливістю групи сортів Правобережного Лісостепу України є поєднання алелів *Gli-A1w* (маркер 1AL.1RS типу Amigo) та *Glu-B1d*, для групи сортів зони Степу України – це поєднання алелів *Gli-A1g* та *Glu-B1al,* що вперше з`явилось у сорту Одеська червоноколоса від мексиканського сорту Lerma Rojo (Попереля та Благодарова, 1998).

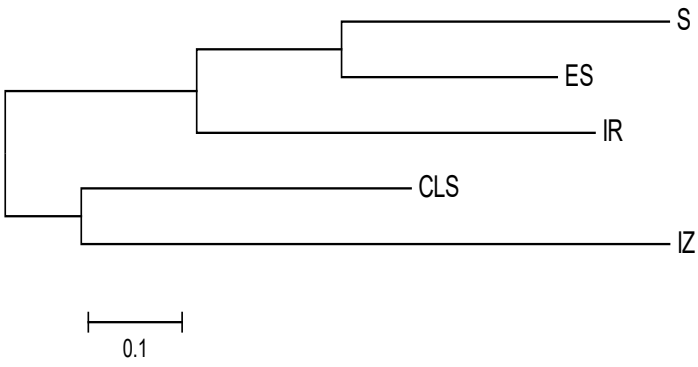

Рис. 12 Дендрограма (NJ) генетичної подібності між групами українських озимих сортів *T. aestivum* за проламіновими локусами. S – зони Степу (СГІ); CLS – зони Правобережного Лісостепу (МІП, ІФРіГ, БЦДС); IZ – ІЗ, IR – ІР; ES – інших селекційних установ Півдня та Сходу України.

Відмічено зміни в популяційній структурі за локусами запасних білків для групи сортів СГІ, створених після 2010 р, порівняно з групами сортів СГІ, створених у попередні періоди, на відміну від однотипної популяційної структури сортів МІП у три періоди селекції (до 1996 р., з 1996 по 2010, після 2010 р) (табл. 4).

Таблиця 4

Частка участі у двох кластерах, визначена окремо для сортів МІП (М) та СГІ (S) за допомогою програми STRUCTURE

Група сортів* (кількість)	Кластер 1	Кластер 2
M1 (24)	0,010	**0,990**
M2 (63)	0,259	**0,741**
M3 (21)	0,140	**0,860**
S1 (56)	0,210	**0,790**
S2 (59)	**0,498**	**0,502**
S3 (52)	**0,709**	0,291

Примітка. * 1 – сорти зареєстровані до 1996 р., 2 – з 1996 по 2010, 3 – після 2010 р.

Для груп сортів СГІ і МІП різних періодів створення показано поступові зміни частот деяких алелів локусів запасних білків, які корелюють з підвищенням температури (табл. 5). Можна припустити, що алелі локусів запасних білків, частота яких істотно зросла за останні 20 років, зчеплені з адаптивно важливими хромосомними ділянками, зокрема, пов`язаними з реакцією на підвищену температуру.

Таблиця 5

Частоти алелів локусів запасних білків в групах сортів СГІ (S) і МІП (М), створених в різні періоди часу (1 –до 1996 р., 2 – у 1996–2010 р; 3 – після 2010 р.) та значення коефіцієнта рангової кореляції Спірмана (ρ)

Алель	S1	S2	S3	ρ	M1	M2	M3	ρ
Gli-A1f	0,009	0,008	0,010		**0,396**	**0,214**	**0,095**	-0,24**
Gli-A1g	**0,027**	**0,178**	**0,394**	0,44***	0,000	0,000	0,000	
Gli-A1x	0,000	0,000	0,000		**0,042**	**0,103**	**0,310**	0,22*
Gli-D1b	**0,357**	**0,144**	**0,087**	-0,31***	**0,458**	**0,762**	**0,667**	0,19*
Gli-D1g	**0,277**	**0,466**	**0,529**	0,18*	0,354	0,127	0,262	
Glu-B1al	**0,018**	**0,119**	**0,240**	0,28***	0,000	0,000	0,000	
Glu-B1c	**0,563**	**0,280**	**0,298**	-0,21**	0,958	0,667	0,810	
Gli-A3a	**0,300**	**0,576**	**0,740**	0,32***	0,476	0,277	0,300	
Gli-A3b	**0,700**	**0,398**	**0,212**	-0,43***	0,452	0,438	0,550	

Вперше визначено алельний склад локусів запасних білків грецьких сортів та ліній *T. aestivum* та ідентифіковано носіїв транслокації 1BL.1RS типу Кавказ (Orpheus, Acheron, KVZ, Elissavet та біотип сорту Chios, лінії DHL16 та DHL17). Виявлено достатньо високий рівень різноманітності (0,649) та диференціацію сортів на дві групи – з алелями, характерними для європейських і мексиканських сортів.

У колекції грецьких зразків *T. durum* виявлено більшу генетичну різноманітність за локусами запасних білків у місцевих популяцій (0,517), ніж у комерційних сортів (0,294). Більшість комерційних грецьких сортів *T. durum* мають фіксовану асоціацію алелів *Gli-A1r, Gli-B1h, Glu-A1c, Glu-B1u*. Найбільш ймовірною причиною формування такої стабільної асоціації є пов`язаність цих алелів з високим рівнем якості пасти. Існування аналогічної переважної асоціації трьох алелів у місцевих

популяцій – *Gli-A1r, Gli-B1h, Glu-A1c* вказує на можливість формування коадаптивної асоціації алелів, яка може бути пов`язана зі стійкістю до стресових факторів під час вегетації.

У двох колекціях тритикале визначено середній рівень генетичної різноманітності (0,412 і 0,505) та відмінності між ними за переважними алелями проламінових локусів (зокрема, у грецьких тритикале переважав *Gli-B1h*). На основі генетичних відстаней зразки розподілились в два кластери, один з яких включає зразки селекції ІР, другий включає грецькі зразки та деякі зразки з колекції НЦГРРУ, зокрема російський сорт Ярило.

У колекціїі *T. spelta* з НЦГРРУ за локусом *Gli-B1* переважав алель *hs**, споріднений з *h*. У зразка *T. spelta* var. *duhamelianum* UA0300306 ідентифіковано новий алель *Gli-B1ps**. Гібридологічним аналізом визначено, що у *T. spelta var. caeruleum* темний колір колоса визначається геном на хромосомі 1А, зчепленим з алелем *Gli-A1j*.

Аналіз алелів проламінових локусів зразків колекції *T. dicoccum* показав, що переважні алелі локусу *Gli-B1* пов'язані з належністю *T. dicoccum* до певного підвиду: алель *Gli-B1h* і споріднені алелі (*ha*, hb*, hs**) є характерними для subsp. *dicoccum* (частота серед цього підвиду – 0,545) (рис. 13, В), *Gli-B1x* – для subsp. *asiaticum* (0,708) (рис. 2), *Gli-B1g* – для subsp. *abyssinicum* (рис. 13, А).

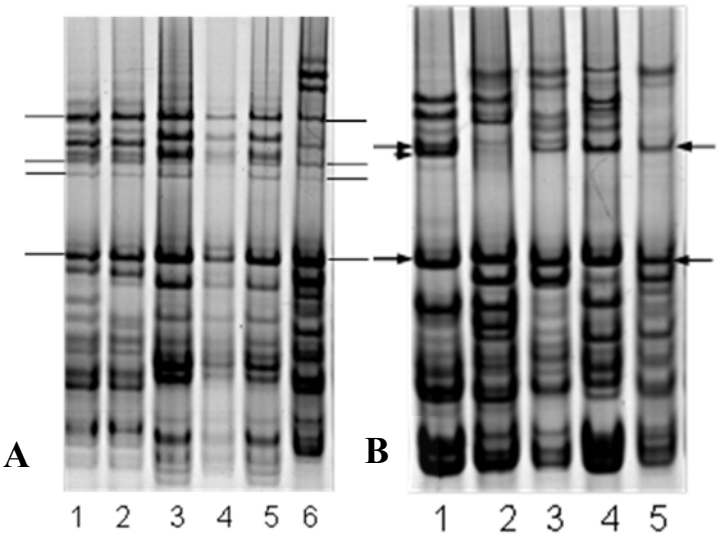

Рис. 13 Електрофоретичні спектри гліадинів зразків **А** – з алелем *Gli-B1g*: *T. dicoccum* subsp. *abyssinicum:* 1 – UA0300077; 2 – UA0300232; 3-5 – UA0300204; 6 – лінія *T. aestivum* B4 з *Gli-B1g* (компоненти, кодовані цим алелем відмічено рисками). **В**: 4 – *T. dicoccum* subsp. *dicoccum:* 1) UA0300081 (з *Gli-B1hs**); UA0300004; *T. aestivum:* 2) лінія А1; 3) Монотип; 5) Краснодонка – стандарт *Gli-B1h* (кодовані ним компоненти позначено стрілками).

Більшість переважних алелів локусів запасних білків у колекції *T. dicoccum* також зустрічаються у гексаплоїдних пшениць. У результаті дослідження колекцій *T. aestivum, T. spelta, T. durum, T. dicoccum* та тритикале виявлено спільні алелі за локусами запасних білків у різних видів пшениці і тритикале, зокрема, вперше ідентифіковано спільні алелі *g, h, x* локусу *Gli-B1* у гексаплоїдних і тетраплоїдних пшениць (рис. 14) та показано, що алель *Gli-A3e* є спільним для *T. dicoccum* і *T. aestivum.* Ймовірно, спільні алелі є найбільш «архаїчними» алелями і генотипи тетраплоїдної пшениці з подібними алелями були предковими формами гексаплоїдної пшениці.

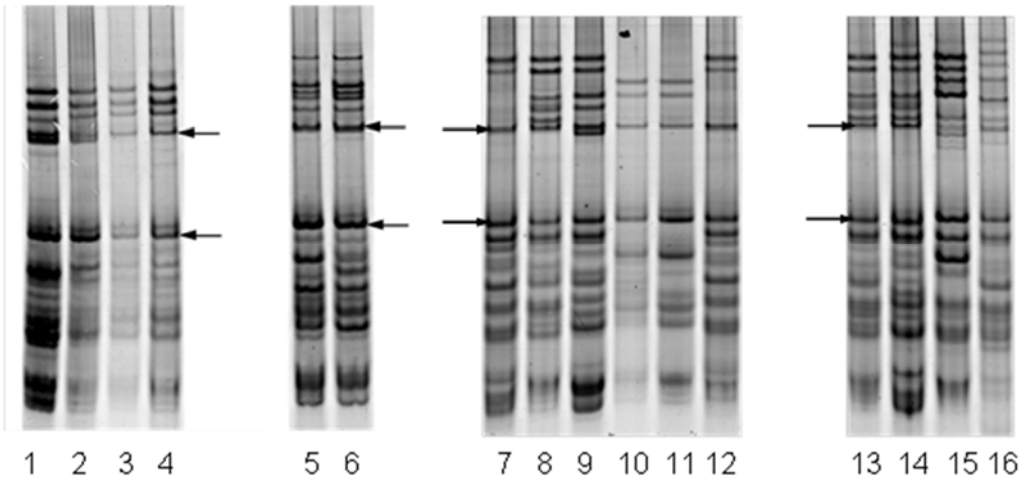

Рис. 14 Електрофоретичні спектри гліадинів зразків *T. dicoccum, T. spelta, T. aestivum, T. durum*. ***T. dicoccum****:* 1) UA0300081; 2–4) UA0300215; 5) UA0300004; 6) UA0300005. ***T. spelta***: 8, 13) Schwabenkorn UA0300102 (*Gli-B1h*); 9) NSS 3/01 UA0300227 (*Gli-B1hs**); 15) UA0300246 NSS 1/01 (*Gli-B1g*). ***T. durum***: 10) Skiti; 11) Selas. ***T. aestivum***: 7, 12) Краснодонка (*Gli-B1h*); 14) Естет (*Gli-B1h*); 16) Миронівська 808 (*Gli-B1b*). Стрілками позначено компоненти, кодовані алелем ***Gli-B1h.***

АНАЛІЗ РІЗНОМАНІТНОСТІ ПРИРОДНИХ ПОПУЛЯЦІЙ ДИКОРОСЛИХ РОДИЧІВ ПШЕНИЦІ

Досліджено два види дикорослих злаків – перехреснозапильний вид *Dasypyrum villosum* (L.) P. Candargy (VV) та самозапильний тетраплоїдний вид *Ae. biuncialis* Vis. (UUMM), що ростуть на території України (Кримський півострів).

Запропоновано аналіз ω-гліадинів на SDS-електрофореграмі як маркер *Gli-V1* для дослідження популяцій *D. villosum*, який можливо застосовувати одночасно з аналізом високомолекулярних субодиниць глютенінів (рис. 15). Популяції *D. villosum* Берегового і Херсонеса істотно відрізняються за частотами алелів локусів *Glu-V1* та *Gli-V1*. Відмічено вищу частоту нуль-алеля за локусом *Glu-V1* в українських популяціях *D. villosum,* ніж в італійських та балканських популяціях (Zhong and Qualset, 1993).

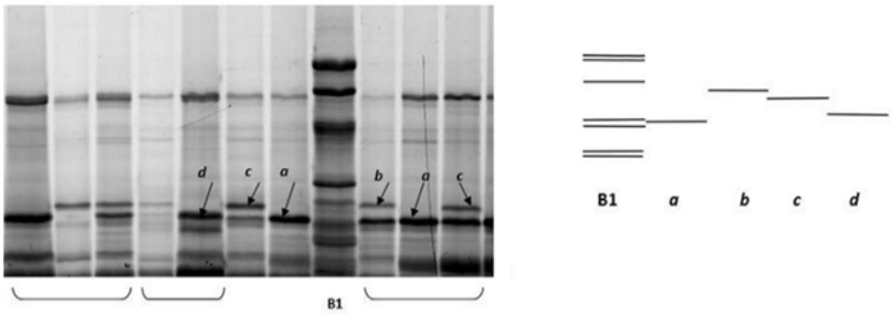

Рис. 15 Фрагмент SDS-електрофореграми білків окремих зернівок *D. villosum* та *T. aestivum* Безоста 1 (B1). Буквами позначено ω-гліадини, кодовані відповідними алелями локусу *Gli-V1,* справа – їхня схема.

У *Ae. biuncialis* вперше ідентифіковано алелі локусів високомолекулярних субодиниць глютенінів *Glu-U1*, *Glu-M^{b}1* і локусів гліадинів *Gli-U1, Gli-M^{b}1*: 11 алелів локусу *Glu-U1,* 19 алелів *Glu-M^{b}1*, 21 алель *Gli-U1*, 12 *Gli-M^{b}1* (рис. 16, 17).

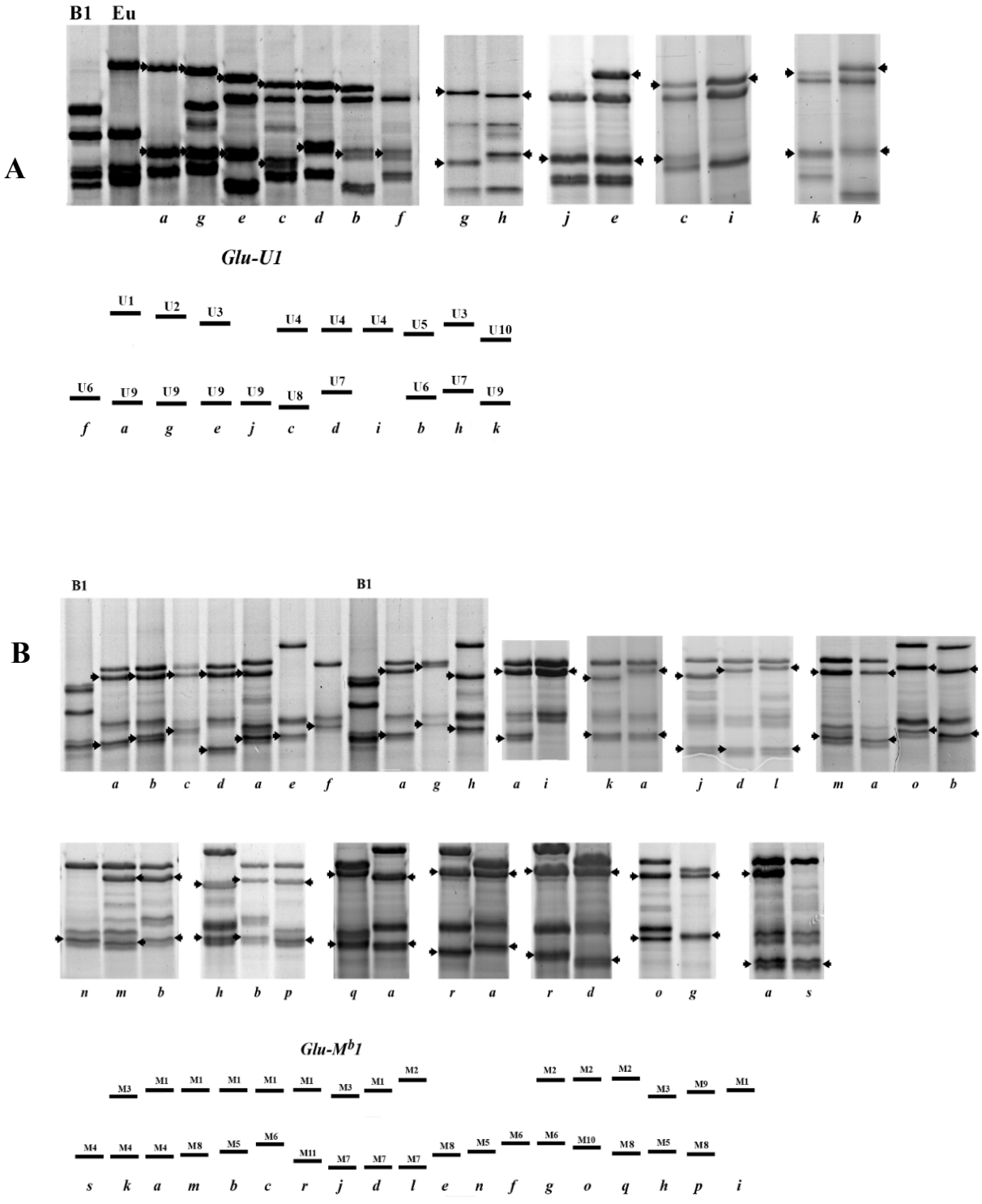

Рис. 16 SDS-Електрофореграми високомолекулярних субодиниць глютенінів зразків *Ae. biuncialis,* кодованих різними алелями локусу *Glu-U1* (*a–k*) (**A)** та *Glu-M^{b}1* (*a–s*) (**B**); субодиниці, кодовані алелями, відмічені стрілками. B1 і Eu – сорти *T. aestivum* Безоста 1 і Euparmil, відповідно. Знизу: схема блоків, кодованих алелями.

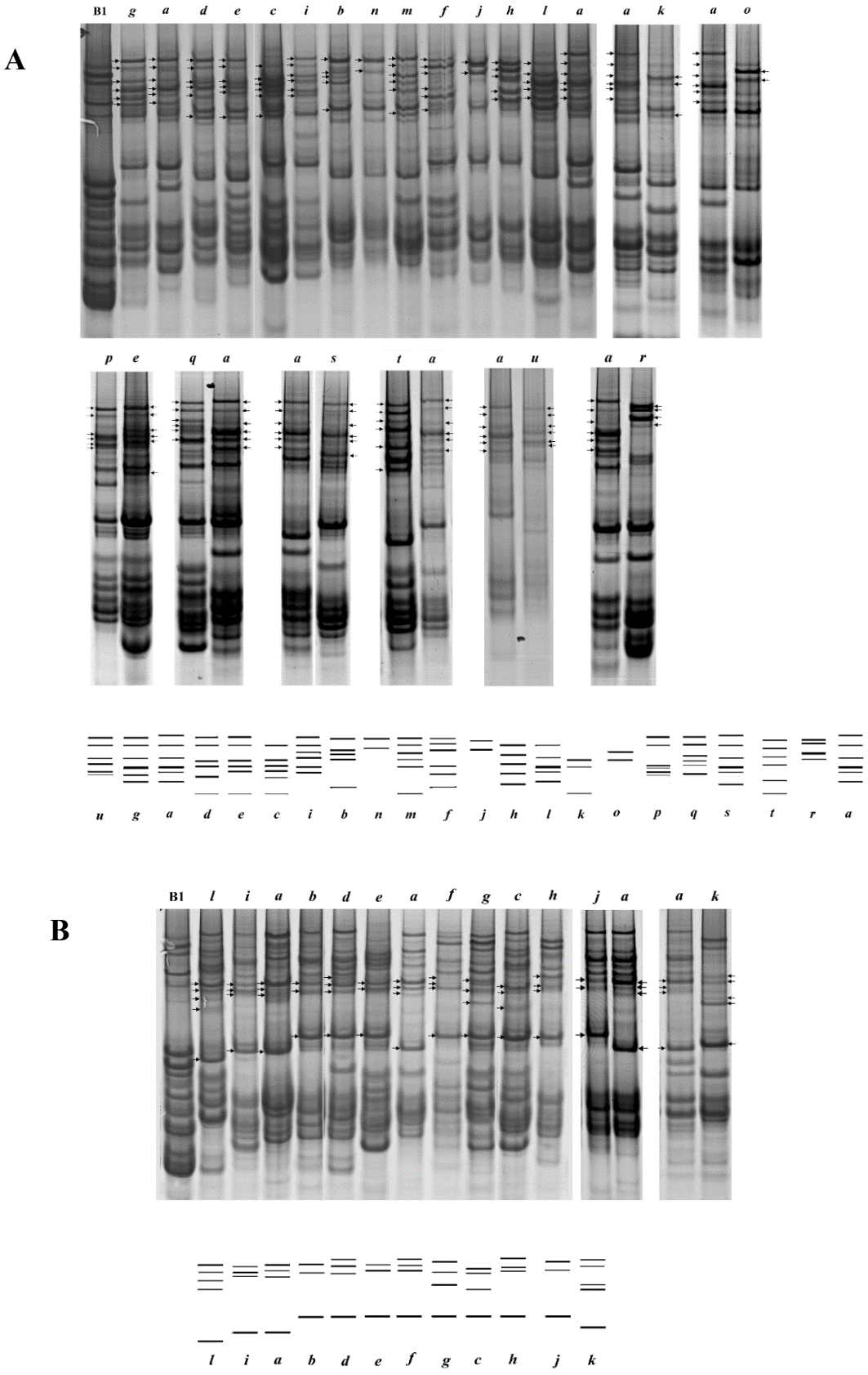

Рис. 17 Електрофореграма гліадинів зразків *Ae. biuncialis* з компонентами, кодованими різними алелями локусу *Gli-U1* (*a–u*) (**A)** та *Gli-M^{b}1* (*a–l*) (**B**), відміченими стрілками. В1 – сорт *T. aestivum* Безоста 1. Знизу – схема компонентів, кодованих алелями.

Різноманітність ідентифікованих алелів локусів високомолекулярних субодиниць глютенінів *Ae. biuncialis*, виявлена на матеріалі з незначної, маргінальної частини ареалу виду – з Кримського півострова, перевищує описану різноманітність алелів у його диплоїдних попередників *Ae. umbellulata* та *Ae. comosa* (Rodriguez-Quijano et al., 2001).

У 1995–2012 рр. було проведено збір зразків *Ae. biuncialis* з різних місцевостей Кримського півострова. Місцевості зборів позначено на рис. 18.

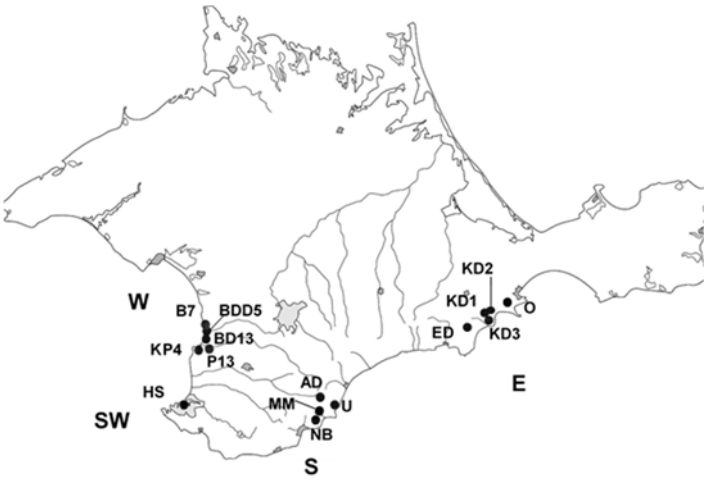

Рис. 18 Мапа Кримського півострова з позначеннями місцевостей (чорні круги), де були зібрані вибірки зразків з популяцій *Ae. biuncialis* та регіони кримського ареалу виду (E – східний, S – південний, SW – південно-західний, W – західний)

За результатами мультилокусного аналізу на основі алелів проламінових локусів різними методами виявлено, що кримські популяції *Ae. biuncialis* поділяються на два кластери, один з яких включає популяції західного регіону, інший – популяції з південного і східного регіонів Кримського півострова (рис. 19). Популяція південно-західної частини – з Херсонеса (HS) виявилась генетично ближчою до популяцій південного та східного регіонів.

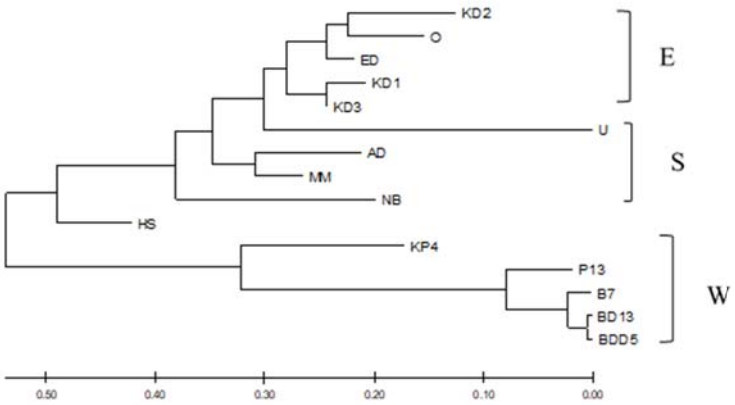

Рис. 19 Дендрограма популяцій *Ae. biuncialis*, побудована на основі попарних значень показника диференціації Джоста методом NJ. Популяції східного (E), південного (S) та західного (W) регіонів, HS – південно-західного.

Найбільшу генетичну різноманітність виявлено в популяціях західного регіону (0,636–0,698) та в популяції південного заходу із заповідника Херсонес Таврійський (0,659). У популяціях *Ae. biuncialis* ідентифіковано підвищену частоту 18 поєднань алелів за 4 маркерними локусами. що може свідчити про адаптивне значення таких поєднань. Найбільш поширеним є генотип – *Gli-U1a Gli-M^{b}1a Glu-U1b Glu-M^{b}1a*, що зустрічається у шести популяціях з трьох регіонів (частота – 0,052). Аналіз кореляції між попарним показником диференціації Джоста і географічними відстанями (Mantel-тест) показує, що генетичні відмінності популяцій *Ae. biuncialis* лінійно збільшуються

з географічними відстанями, генетична різноманітність структурована в географічному просторі, і 52% генетичної дивергенції пояснюються географічними відстанями. Однак, популяція із заповідника Херсонес Таврійський, що є географічно ближчою до популяцій заходу, є генетично ближчою до популяцій півдня і сходу, очевидно, через подібність ґрунтових умов. У популяції Херсонеса одночасно присутні основні переважні алелі популяцій східної та західної частин ареалу *Ae. biuncialis* на Кримському півострові (табл. 6).

Таблиця 6

Частка типових алелів для різних регіонів кримського ареалу *Ae. biuncialis* у популяції Херсонеса (HS)

Типові алелі для регіону	*Gli-U1*	*Gli-M^{b}1*	*Glu-U1*	*Glu-M^{b}1*
E	***a, d, j* (0,733)**	*a* (0,250)	***b* (0,420)**	***a* (0,489)**
W	*e, i* (0,108)	***g* (0,523)**	*d, e* (0,210)	*m* (0,057)
SW (HS)	*h* (0,091)	*k* (0,148)	*g* (0,142)	*g* (0,216)
S+W			*c* (0,159)	*b* (0,193)
S				*c* (0,034)

Оскільки серед генотипів популяції Херсонеса за локусами *Gli-U1, Glu-U1, Glu-M^{b}1* переважають алелі, типові для східної частини ареалу, і лише за *Gli-M^{b}1* переважає алель, типовий для західної частини, можна припустити, що поліморфізм за *Gli-M^{b}1* має менше адаптивне значення в популяції HS, ніж за *Gli-U1, Glu-U1, Glu-M^{b}1,* і є результатом близької географічної відстані до популяцій західного регіону півострова. Частота перезапилення в кримських популяціях *Ae. biuncialis* у середньому становить 4,10 ± 0,12%. Водночас, виявлено географічну диференціацію за швидкістю виколошування-цвітіння у *Ae. biuncialis* – найбільш ранньостиглими є зразки зі східної частини ареалу виду на Кримському півострові. Такі зразки є найбільш зручними для залучення в міжвидову гібридизацію з культурними пшеницями.

У відповідності з М-стратегією створення корової колекції, створено генетичну колекцію *Ae. biuncialis* «Колекція зразків *Aegilops biuncialis* Vis. за алелями локусів запасних білків *Glu-U1, Glu-M^{b}1*, *Gli-U1, Gli-M^{b}1»*, яку зареєстровано в НЦГРРУ. Колекція включає 24 зразки, з яких 23 походять з Кримського півострова. У зареєстрованій колекції представлено 60% від загальної кількості ідентифікованих алелів локусу *Glu-U1,* 47% алелів *Glu-M^{b}1,* 62% алелів *Gli-U1,* та 100% ідентифікованих нами в кримських популяціях алелів локусу *Gli-M^{b}1.*

УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

При аналізі колекцій сортів та гібридного матеріалу *T. aestivum* ідентифіковано низку нових проламінових алелів. Ідентифіковані нові алелі можна було б за походженням, відповідно до чинників мінливості, розділити на три групи – рекомбінантні, мутантні та інтрогресивні, але такий поділ буде спрощеним, оскільки серед описаних алелів є також рекомбінантно-інтрогресивні (результат рекомбінації між алелями (кластерами генів) проламінових локусів різних видів) та мутантно-

інтрогресивні (мутації в секалінових генах у складі пшенично-житньої транслокації 1BL.1RS типу Кавказ – найбільш поширеної інтрогресії серед комерційних сортів *T. aestivum* (Rabinovich, 1998; Schlegel, 2016)). Ідентифіковані мутантні алелі, у свою чергу, можна класифікувати на алелі, що є результатом спонтанних мутацій, та такі, що індуковані мутагенезом. Для дослідження частоти виникнення мутацій у проламінових локусах при гамма-опроміненні сухих зерен *T. aestivum* вибрано дозу 200 Гр, оскільки відомо, що ця доза є оптимальною для обробки сухого насіння озимої м`якої пшениці за максимальною загальною частотою видимих мутацій у M_1–M_3 (Моргун и Логвиненко, 1995). Частота мутацій гліадинових локусів, індукованих гамма-опроміненням сухих зерен F_1 (M_1) від схрещування D4 × B3 на основі сорту Безоста 1 дозою 200 Гр, зростає на порядок порівняно з контрольним варіантом (0,5%). Така частота спонтанних мутацій за гліадиновими локусами узгоджується з даними Чернакова і Метаковського (Чернаков и Метаковский, 1993). Найбільш частим типом індукованих і спонтанних мутацій у нашому дослідженні були нуль-алелі, що, найбільш ймовірно, викликано делецією відповідного локусу. Нуль-алелі за гліадиновими локусами у пшениці твердої і м'якої виявлено іншими дослідниками (Lafiandra et al., 1987; Metakovsky, and Branlard, 1998; Waga et al., 2013; Waga and Skoczowski, 2014). Хоча пшениця є важливим продуктом харчування і джерелом білку (Shewry and Hey, 2015), запасні білки пшениці можуть викликати у чутливих людей такі небезпечні хвороби як целіакію (автоімунна ентеропатія) (Gujral et al., 2012) та алергію, у тому числі анафілактичний шок (Scherf et al., 2015). Наприклад омега-5-гліадини, кодовані *Gli-B1*, є основними алергенами, що викликають анафілактичний шок у чутливих людей, коли вживання продуктів з пшениці супроводжується фізичними навантаженнями (WDEIA, wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis) (Scherf et al., 2015; Le et al., 2016; Kennard et al., 2018), алергію можуть викликати і білки, кодовані *Gli-D1* (Altenbach et al., 2018). Одним з підходів, який дає змогу уникнути розвитку таких захворювань без відмови від вживання продуктів з пшениці, є створення сортів пшениці зі зниженою алергенністю – без синтезу певних омега-гліадинів (Waga et al., 2013; Lee et al., 2018; Yamada et al., 2019). У цьому сенсі практичну цінність мають лінії з нуль-алелями за локусом *Gli-B1* або *Gli-D1*, відібрані нами маркерним добором спонтанних мутантів серед рослин F_2 від схрещування Одеська червоноколоса × Б-16, а також біотип сорту Славен з нуль-алелем *Gli-D1*.

Окрему групу складають нові алелі мутантного і рекомбінантного походження на основі алеля *Gli-B1b*, що є одним з найпоширеніших алелів у світовій колекції сортів *T. aestivum* (Metakovsky et al., 2018) і, зокрема, серед українських сортів (Kozub et al., 2017). Аналіз мутантних і рекомбінантних алелів, похідних від *Gli-B1b,* дає змогу визначити вірогідний порядок розміщення генів у складі алеля *Gli-B1b:* ген мажорного гамма гліадина розміщується між генами, що кодують мажорний і мінорний омега-гліадини.

Серед інтрогресованих алелів запасних білків у *T. aestivum* особливе місце займає алель *Gli-B1l* за позначенням Metakovsky (1991) (Gld 1B3 (Созинов, 1985)). Цей алель є фактично секаліновим алелем на 1RS у складі транслокації 1BL.1RS, а все плече 1RS у складі 1BL.1RS може розглядатись як «суперген» через відсутність

рекомбінації з короткими плечима гомеологічних хромосом пшениці. Найбільш несподіваним та важливим науковим результатом виявилась ідентифікація за допомогою гібридологічного аналізу нового секалінового локусу *Sec-N* на житньому плечі 1RS дистально від доти відомого *Sec-1 (Gli-R1)* на відстані 10-20 сМ (Kozub et al., 2014). Лише в 2020 р. в роботі Ru et al. (2020) за допомогою секвенування плеча 1RS від Petkus було виявлено два кластери генів (омега- і гамма-гліадинових), розміщених через 9 000 т.п.н., тобто два окремі секалінові локуси, розміщені на відстані не менше 10 сМ. Тому ідентифікований нами локус *Sec-N* (Kozub et al., 2014b) може збігатись, або бути зчепленим з локусом, де знаходиться кластер гамма-гліадинів. За допомогою *Sec-1* та *Sec-N* нами було ідентифіковано нові варіанти пшенично-житніх транслокацій з участю плеча 1RS серед сортів та створено транслокації з рекомбінантними плечима 1RS. Досі невідомо, чи гени стійкості проти збудника стеблової іржі на транслокаціях 1BL.1RS типу Кавказ і 1AL.1RS типу Amigo є алельними (Mago et al., 2015). У випадку їх неалельності, існує потенційна можливість поєднання генів *Sr31* і $Sr1RS^{Amigo}$ в одній транслокації для забезпечення стійкості до практично всіх рас стеблової іржі. Відомим ефектом 1BL.1RS типу Кавказ у геномі *T. aestivum* є негативний вплив на хлібопекарну якість. Аналіз створених нами маркерним добором озимих ліній *T. aestivum,* у яких 1BL.1RS зчеплена (10% рекомбінації) з алелем надвисокої якості *Glu-B1al*, показав, що показник SDS-седиментації таких ліній достатньо високий – на рівні сорту Безоста 1.

Дослідження колекцій сортів пшениці, створених у певних країнах або селекційних установах, дає змогу визначити генетичну структуру цих популяцій – алельний склад і частоти алелів, що відображають адаптивне значення певних хромосомних ділянок. Можна припустити, що кластери проламінових генів, частота яких у групах сортів *T. aestivum* СГІ і МІП істотно зросла за останні 20 років, зчеплені з адаптивно важливими ділянками, зокрема, пов`язаними з реакцією на підвищену температуру, що підтверджується літературними даними з картування молекулярних маркерів та QTL (Ovenden et al., 2017; El-Feki et al., 2018; Soriano and Alvaro, 2019).

Дослідження колекцій *T. aestivum, T. spelta, T. dicoccum, T. durum* і тритикале (амфідиплоїда між твердою пшеницею і житом) дало змогу визначити спільні алелі проламінових локусів (рис. 20).

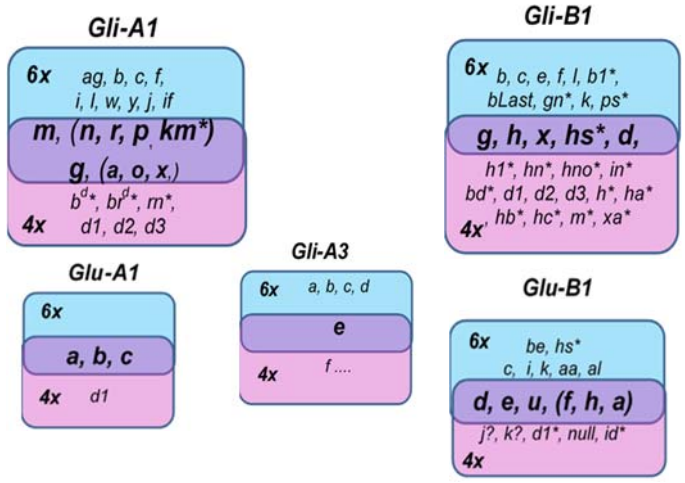

Рис. 20 Спільні алелі в генофонді гексаплоїдних (6х – *T. aestivum, T. spelta*) і тетраплоїдних пшениць (4х – *T. durum, T. dicoccum*)

Цікавим результатом роботи виявилась ідентифікація низки спільних алелів за локусом *Gli-B1*, на відміну від тверджень про існування лише одного спільного алеля,

Gli-B1d (Метаковский, 2015). Наявність спільного алеля у *T. aestivum* та *T. dicoccum* показано також для мінорного гліадинового локусу – алель *Gli-A3e*. Спільні алелі локусів запасних білків, виявлені у гексаплоїдних і тетраплоїдних видів пшениць, слід вважати найбільш архаїчними. Існування спільних алелів за локусом, що належать до різних родин (Metakovsky, 1991; Метаковский, 2015), свідчить про багаторазову гібридизацію тетраплоїдної пшениці і *Ae. tauschii* з утворенням амфідиплоїда *T. aestivum.*

Дикорослі види *Ae. biuncialis* та *D. villosum* не мають спільних геномів з *T. aestivum,* проте вони розглядаються важливим джерелом інтрогресій для розширення генофонду *T. aestivum,* зокрема, генів харчової цінності зерна (Vaccino et al., 2010; Zhao et al., 2010; Zhou et al., 2016; Farkas et al., 2014; Rakszegi et al., 2017). Для дослідження різноманітності *Ae. biuncialis* нами було зібрано колекцію зразків із українських природних популяцій з різних частин ареалу Кримського півострова: східної, південної, південно-західної, та західної, у яких виявлено велику різноманітність проламінових алелів. Механізмами дивергенції генів, що обумовлюють високий рівень поліморфізму проламінових генів у пшениці і її родичів, є помилки реплікації через проковзування полімерази в районі повторів, нерівний кросинговер, «незаконна» рекомбінація, які викликають делеції і дуплікації в послідовностях генів, в основному, пов`язані зі зміною кількості повторів (Zhang et al., 2008; Jiang et al., 2012). Зокрема, поліморфізм високомолекулярних субодиниць глютенінів х- та у-типу *Ae. biuncialis* можна пояснити делеціями і дуплікаціями послідовностей відповідних генів. Аналіз частот алелів високомолекулярних субодиниць глютенінів *Ae. biuncialis* та окремо алельних варіантів генів різних х- і у-субодиниць у 15 популяціях дав змогу зробити висновки про «базові» алелі та про походження певних алелів у результаті мутацій, що привели до зміни розміру молекули або утворення нуль-алеля за геном х- або у-субодиниці (рис. 21). За локусом *Glu-U1* до таких базових алелів, що були у генотипів при формуванні середземноморської флори на Кримському півострові, можна віднести, в першу чергу, алелі *b, c* та *e* (і, можливо, ще *a* та *g*), решта алелів, найбільш ймовірно, є результатом мутацій вже в кримських популяціях. Дані поширення алелів у популяціях Кримського півострова вказують на те, що алелі локусу *Glu-M^b a, m, b, g* (та, ймовірно, *c*) також є базовими (найбільш давніми) алелями в кримській популяції *Ae. biuncialis*. Виникнення нових алелів високомолекулярних субодиниць глютенінів через внутрішньолокусну рекомбінацію є малоймовірним через низьку частоту перезапилення в кримських популяціях *Ae. biuncialis*, яка коливається від 0 до 13% і, в середньому для загальної вибірки зразків *Ae. biuncialis* Криму, становить 4,1%.

Для збереження різноманітності кримських популяцій *Ae. biuncialis ex situ*, з використанням алелів проламінових локусів як генетичних маркерів створено і зареєстровано в НЦГРРУ генетичну колекцію українських зразків *Ae. biuncialis* за принципом М-стратегії створення корової колекції (van Hintum et al., 2000). У ній зафіксовано від 47% до 100% різноманітності алелів за локусами *Gli-M^{b}1, Gli-U1, Gli-M^{b}1, Glu-U1* кримських популяцій *Ae. biuncialis*. Збереження зразків *Ae. biuncialis* в колекції НЦГРРУ дозволить використовувати їх як стандарти алелів для дослідження та моніторингу природних популяцій світового генофонду виду та у міжвидовій

гібридизації як джерело нових корисних генів для розширення генофонду культурної пшениці. Потенціал цієї колекції продемонстровано створенням інтрогресивних ліній *T. aestivum* з експресією локусу *Glu-U1* від *Ae. biuncialis*, що має позитивний ефект на показник хлібопекарної якості (SDS-седиментація) (див. табл. 2).

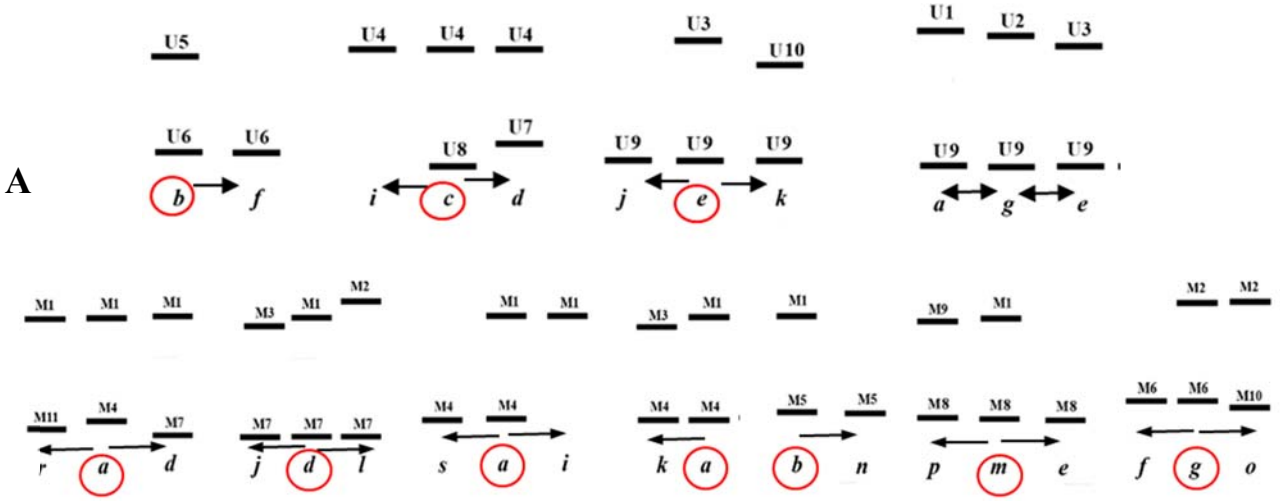

Рис. 21 Схема гіпотетичного походження алелів локусу *Glu-U1* (**A**) та *Glu-M^{b}1* (**B**) на основі частот алелів у кримських популяціях *Ae. biuncialis*

ВИСНОВКИ

За результатами аналізу колекцій генотипів *T. aestivum* та споріднених видів, проведення гібридологічного аналізу, мутагенезу, створення та вивчення гібридного матеріалу з інтрогресіями, ідентифіковано низку нових алелів (варіантів кластерів генів) проламінових локусів, зокрема тих, що є результатом внутрішньолокусної рекомбінації, мутацій, інтрогресії, які є чинниками мінливості цих локусів, та доповнено інформацію про генетичний контроль проламінових компонентів та ефекти певних алелів.

1. Ідентифіковано низку нових алелів проламінових локусів *Gli-B1, Gli-D1, Gli-A1, Gli-A3, Gli-A2, Sec-N, Sec-1 (Gli-R1), Glu-B1* рекомбінантного, мутантного, інтрогресивного та рекомбінантно-інтрогресивного походження.

2. Частота мутацій гліадинових локусів, індукованих гамма-опроміненням сухих зерен *T. aestivum* дозою 200 Гр, становить 7,4% і є на порядок вищою за частоту спонтанних мутацій (0,5%).

3. Встановлено генетичну відстань 0,65 ± 0,18 сМ між групами генів локусу *Gli-D1 T. aestivum* – геном, що кодує ω-гліадин j_5 блоку "*j*", і генами, що кодують решту ω-гліадинів ($j_{1\text{-}4}$), цього алеля. Визначено відстань 0,27 ± 0,14% сМ між групами генів алеля локусу *Gli-D1 Ae. cylindrica* та їх розміщення відносно гена кольору колоскових лусок (*Rg-D1c – Gli-D1cl$_{1\text{-}3}$ –Gli-D1cl$_{4,5}$*–центромера).

4. На житньому плечі 1RS ідентифіковано новий секаліновий локус *Sec-N*, його картовано дистально від локусу *Sec-1* (*Gli-R1*) на відстані 10–20 сМ та зроблено припущення, що *Sec-N* є гомеологічним локусам *Gli-1* пшениці. Ідентифіковано 4 алелі локусу *Sec-N*.

5. Ідентифіковано носіїв транслокації 1AL.1RS типу Amigo серед сортів *T. aestivum* української і російської селекції, транслокацію 1BL.1RS з секаліновими

алелями локусів *Sec-1* та *Sec-N* типу Amigo у сорту MV Táltos, створено лінію CWX з транслокацією 1BL.1RS з секаліновими алелями від жита Воронезьке СГІ, ідентифіковано нову транслокацію 1BL.1RS з новими алелями секалінових локусів у сорту Вишиванка, створено популяцію F_6 рекомбінантно-інбредних ліній пшениці з рекомбінантними плечима 1RS у складі пшенично-житніх транслокацій 1AL.1RS та 1BL.1RS, промаркерованими секаліновими локусами. Частота рекомбінації між 1RS у складі транслокацій 1AL.1RS та 1BL.1RS становить 7 ± 1 %.

6. Міжвидовою гібридизацією та маркерним добором створено матеріал *T. aestivum* з інтрогресіями хромосоми 1U *Ae. biuncialis* або лише її довгого плеча, замаркерованих алелями локусів *Glu-U1* та *Gli-U1* у носіїв цілої хромосоми або лише *Glu-U1* у носіїв 1UL. Присутність інтрогресованого алеля локусу *Glu-U1* від *Ae. biuncialis* пов`язана з високим значенням показника седиментації SDS30.

7. Частота поперечного розщеплення за центромерою у гібридів *T. aestivum*, моносомних за хромосомою 1U *Ae. biuncialis,* складає 9,04±1,42 %. Виявлено більшу частоту втрати пліч 1US, ніж 1UL.

8. Показники перезапилення збільшуються зі збільшенням дози житнього плеча 1RS у складі транслокації 1BL.1RS у геномі *T. aestivum* при сприятливих для цього погодних умовах під час цвітіння (в умовах низької вологи і відсутності опадів).

9. Для транслокації 1AL.1RS типу Amigo не є характерною знижена частота передачі через гамети у гетерозигот *T. aestivum* за її присутністю, на відміну від 1BL.1RS типу Кавказ. Виявлено позитивний ефект присутності транслокації 1AL.1RS типу Amigo на прояв ознак продуктивності, порівняно з наявним плечем 1AS, в умовах Лісостепу та відсутність відмінностей у зоні Степу.

10. Гамма-опромінення сухих зерен F_1 *T. aestivum* дозою 200 Гр приводило до відносного підвищення частоти пилкових зерен з транслокацією 1BL.1RS, які взяли участь у формуванні зернівок F_2, порівняно з контролем. У варіанті з гамма-опроміненням у дозі 200 Гр (або відповідній дозі за рівнем зниження виживання – 20–30%) зерен F_2 найменше знижує ознаки продуктивності відносно свого значення у контролі гомозигота за 1BL.1RS типу Кавказ, порівняно з гетерозиготою і гомозиготою без транслокації.

11. Одночасна присутність двох транслокацій 1AL.1RS типу Amigo і 1BL.1RS типу Кавказ у гібридів в геномі *T. aestivum* приводить до зниження озерненості. Сорт Миронівська 67 несе фактори, які підсилюють зниження озерненості у гібридів із двома різними транслокаціями. Показано можливість гетерозису у гібридів з двома транслокаціями 1AL.1RS і 1BL.1RS, незважаючи на зниження озерненості, однак прояв гетерозису залежить від генетичного тла.

12. За допомогою маркерного добору створено лінії пшениці м`якої озимої з транслокацією 1BL.1RS, зчепленою зі алелем *Glu-B1al,* які мають показник SDS-седиментації на рівні сорту Безоста 1 (при наявності алеля *Glu-D1d*).

13. У групі українських озимих сортів пшениці м`якої виявлено невипадкові асоціації алелів локусів запасних білків *Gli-B1, Gli-A3, Gli-D1* та ДНК-маркерів генів стійкості проти збудників хвороб: гена *Lr34/Yr18/Pm38/Sr57/Bdv1* стійкості проти низки біотрофних фітопатогенів, гена *TDF_076_2D* помірної стійкості проти збудників фузаріозу колоса, гена *Tsn1* чутливості до токсинів А некротрофних грибів-

збудників піренофорозу та септоріозу колоса. Визначено формування невипадкових асоціацій алелів локусів запасних білків у групах сортів пшениці м`якої озимої української селекції, створених після 1996 р.: особливістю групи сортів МІП спільно з ІФРіГ є поєднання алелів *Gli-A1w* (маркер транслокації 1AL.1RS типу Amigo), *Glu-B1d*, для групи сортів СГІ – це поєднання алелів *Gli-A1g, Glu-B1al.*

14. Відмічено зміни в популяційній структурі за проламіновими локусами для групи сортів СГІ, створених після 2010 р, порівняно з групами сортів СГІ, створених у попередні періоди, на відміну від однотипної популяційної структури сортів МІП у три періоди селекції (до 1996 р., з 1996 по 2010, після 2010 р). Для груп сортів СГІ і МІП різних періодів створення показано поступові зміни частот деяких алелів проламінових локусів, які корелюють з підвищенням температури. Можна припустити, що алелі локусів запасних білків, частота яких істотно зросла за останні 20 років, зчеплені з адаптивно важливими ділянками, зокрема, пов`язаними з реакцією рослини на підвищену температуру.

15. Визначено алельний склад проламінових локусів грецьких сортів та ліній *T. aestivum* та ідентифіковано носіїв транслокації 1BL.1RS типу Кавказ. Серед грецьких зразків *T. durum,* місцеві популяції мають більшу різноманітність за алелями проламінових локусів ніж комерційні сорти. Більшість комерційних грецьких сортів *T. durum* мають фіксовану асоціацію алелів *Gli-A1r, Gli-B1h, Glu-A1c, Glu-B1u*. Найбільш ймовірною причиною формування такої стабільної асоціації є пов`язаність цих алелів з високим рівнем якості пасти. Існування аналогічної переважної асоціації за трьома маркерними локусами у місцевих популяцій – *Gli-A1r, Gli-B1h, Glu-A1c* вказує на можливість формування коадаптивної асоціації алелів, яка може бути пов`язана зі стійкістю до стресових факторів під час вегетації.

16. За локусом *Gli-B1* у колекції *T. spelta* переважає алель *h* і споріднений алель *hs*,* ці алелі також поширені у тетраплоїдних пшениць. Гібридологічним аналізом визначено, що у *T. spelta* var. *caeruleum* темний колір колоса визначається геном на хромосомі 1А, зчепленим з алелем *Gli-A1j.*

17. Переважні алелі локусу *Gli-B1* пов’язані з належністю *T. dicoccum* до певного підвиду: алель *Gli-B1h* і споріднені алелі (*ha*, hb*, hs**) є характерними для європейських полб (subsp. *dicoccum)*, *Gli-B1x* – для східних полб (subsp. *asiaticum* Vav.), *Gli-B1g* – для ефіопських полб (subsp. *abyssinicum* Vav.).

18. Виявлено спільні алелі за проламіновими локусами у досліджених вибірках зразків різних видів пшениці і тритикале. Зокрема, ідентифіковано спільні алелі локусу *Gli-B1 g, h, x* у гексаплоїдних і тетраплоїдних пшениць та показано, що алель *Gli-A3e* є спільним для *T. dicoccum* і *T. aestivum.* Ймовірно, спільні алелі є найбільш «архаїчними» алелями, і генотипи тетраплоїдної пшениці з подібними алелями були предковими формами гексаплоїдної пшениці.

19. Запропоновано аналіз ω-гліадинів на SDS-електрофореграмі як маркер *Gli-V1* для дослідження популяцій *D. villosum*, який можливо застосовувати одночасно з аналізом високомолекулярних субодиниць глютенінів. Визначено показники різноманітності за локусами *Glu-V1* та *Gli-V1* та виявлено відмінності популяцій *D. villosum* Берегового і Херсонеса за частотами алелів цих локусів.

20. У *Ae. biuncialis* ідентифіковано алелі локусів високомолекулярних субодиниць глютенінів *Glu-U1*, *Glu-M^{b}1* і локусів гліадинів *Gli-U1, Gli-M^{b}1*: 11 алелів локусу *Glu-U1,* 19 алелів *Glu-M^{b}1*, 21 алель *Gli-U1*, 12 – *Gli-M^{b}1.* Різноманітність ідентифікованих алелів локусів високомолекулярних субодиниць глютенінів *Ae. biuncialis*, виявлена на матеріалі з незначної, маргінальної частини ареалу виду – з Кримського півострова, перевищує відому різноманітність алелів у його диплоїдних попередників *Ae. umbellulata* та *Ae. comosa*.

21. За результатами мультилокусного аналізу різними методами, кримські популяції *Ae. biuncialis* діляться на два кластери, один з яких включає популяції західного регіону, інший – популяції з південного і східного регіонів Кримського півострова. Найбільшу середню генетичну різноманітність за Nei виявлено в популяціях західного регіону та в популяції південного заходу із заповідника Херсонес Таврійський. У популяціях *Ae. biuncialis* ідентифіковано підвищену частоту 18 поєднань алелів за 4 маркерними локусами, що може свідчити про адаптивне значення таких поєднань. Частота перезапилення в кримських популяціях *Ae. biuncialis*, в середньому, становить 4,10 ± 0,12%.

22. Популяція із заповідника Херсонес Таврійський, що є географічно ближчою до популяцій заходу півострова, виявилась генетично ближчою до популяцій півдня і сходу, очевидно, через подібність ґрунтових умов. Оскільки серед генотипів популяції Херсонеса за локусами *Gli-U1, Glu-U1, Glu-M^{b}1* переважають алелі, типові для східної частини ареалу, і лише за *Gli-M^{b}1* переважає алель, типовий для західної частини, можна припустити, що поліморфізм за *Gli-M^{b}1* має менше адаптивне значення у цій популяції, ніж за *Gli-U1, Glu-U1, Glu-M^{b}1* і є результатом близької географічної відстані до популяцій західного регіону Криму. Водночас, виявлено географічну диференціацію за швидкістю виколошування-цвітіння у *Ae. biuncialis* – найбільш ранньостиглими є зразки із східної частини ареалу виду Кримського півострова.

23. Створено генетичну колекцію *Ae. biuncialis* «Колекція зразків *Aegilops biuncialis* Vis. за алелями локусів запасних білків *Glu-U1, Glu-M^{b}1*, *Gli-U1, Gli-M^{b}1»*, яку зареєстровано в НЦГРРУ. В колекції зафіксовано від 47% до 100% різноманітності алелів за локусами *Gli-M^{b}1, Gli-U1, Gli-M^{b}1, Glu-U1* кримських популяцій *Ae. biuncialis*. Збереження зразків *Ae. biuncialis* в колекції НЦГРРУ дасть змогу використовувати їх як стандарти алелів для дослідження та моніторингу природних популяцій світового генофонду виду та у міжвидовій гібридизації як джерело нових корисних генів для розширення генофонду *T. aestivum*.

СПИСОК РОБІТ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у фахових та іноземних наукових виданнях:

1. **Kozub, N.O**., Sozinov, I.O., Chaika, V.M., Sozinova, O.I., Janse, L.A., and Blume, Ya.B., 2020. Changes in allele frequencies at storage proteins of winter_common wheat under climate change. *Cytology and Genetics*, 54(4), pp.305-317. DOI: 10.3103/S0095452720040076 (*Особистий внесок здобувача: ідентифікація алелів запасних білків, опрацювання і аналіз отриманих даних, разом зі співавторами - планування та проведення експерименту, написання статті*).

2. **Kozub, N.O**., Sozinova, O.I., and Blume Ya.B., 2020. Variation of storage proteins in Crimean populations of *Dasypyrum villosum*. *Cytology and Genetics*, 54(2), pp.91-95. DOI:10.3103/S0095452720020097 (*Особистий внесок здобувача: планування експерименту, участь у зборі рослинного матеріалу, ідентифікація алелів, разом зі співавторами – проведення експерименту, аналіз отриманих даних, написання статті*).

3. **Козуб, Н.О.,** Созінов, І.О., Бідник, Г.Я, Дем`янова, Н.О., Созінова, О.І. та Блюм, Я.Б., 2020. Вплив мутацій в алелях *Gli-B1b* та *Gli-B1l* на показники якості зерна пшениці м`якої. *Фактори експериментальної еволюції організмів,* 27, с.94-99. DOI: https://doi.org/10.7124/FEEO.v27.1309 (*Особистий внесок здобувача: планування експерименту, створення рослинного матеріалу, ідентифікація алелів, аналіз отриманих даних, разом зі співавторами – проведення експерименту*, *написання статті)*.

4. **Козуб, Н.О.,** Созінов, І.О., Чайка, В.М., Бідник, Г.Я, Дем`янова, Н.О., Созінова, О.І., Янсе, Л.А., Карелов, А.В. та Блюм, Я.Б., 2020. Популяційна структура *Triticum aestivum* L. Степу України за локусами запасних білків у різні періоди селекції. *Фактори експериментальної еволюції організмів,* 27, с.239-244. DOI: https://doi.org/10.7124/FEEO.v27.1333 (*Особистий внесок здобувача: планування експерименту, ідентифікація алелів, аналіз отриманих даних, разом зі співавторами – проведення експерименту*, *написання статті)*.

5. **Козуб, Н.О.** та Созінов, І.О., 2020. Особливості передачі маркерів хромосоми 1U *Aegilops biuncialis* Vis. у гібридів пшениці м'якої. *Наукові записки НаУКМА. Біологія і екологія,* 3, с.20-25. DOI: 10.18523/2617-4529.2020.3.20-25 (*Особистий внесок здобувача: планування експерименту, створення рослинного матеріалу, ідентифікація алелів, аналіз отриманих даних, разом зі співавтором – проведення експерименту*, *написання статті)*.

6. **Козуб, Н.О.,** Созінов, І.О., Бідник, Г.Я, Дем`янова, Н.О., Созінова, О.І., Карелов, А.В. та Блюм, Я.Б., 2019. Мутанти за гліадиновими локусами на основі сорту пшениці м`якої Безоста 1. *Фактори експериментальної еволюції організмів,* 24, с.109-114. DOI: 10.7124/FEEO.v24.1088 (*Особистий внесок здобувача: планування експерименту, створення рослинного матеріалу, ідентифікація алелів, аналіз отриманих даних, разом зі співавторами – проведення експерименту*, *написання статті)*.

7. **Козуб, Н.О.,** Созінов, І.О., Бідник, Г.Я, Дем`янова, Н.О., Созінова, О.І., Карелов, А.В. та Блюм, Я.Б., 2019. Дослідження матеріалу пшениці м`якої від гібридизації з *Aegilops biuncialis* Vis. за допомогою маркерів хромосоми 1U. *Фактори експериментальної еволюції організмів,* 25, с.55-59. DOI: https://doi.org/10.7124/FEEO.v24.1088 (*Особистий внесок здобувача: планування експерименту, створення рослинного матеріалу, ідентифікація алелів, аналіз отриманих даних, разом зі співавторами – проведення експерименту*, *написання статті)*.

8. Xynias, I.N., Mavromatis, A.G., Korpetis, E.G., Pankou, C.I., and **Kozub, N.O.**, 2019. Description and characterization of Hellenic wheat germplasm for agronomical and seed quality parameters using phenotypical, biochemical and molecular approaches. *Cytology and Genetics*, 53(4), pp.337-347. https://doi.org/10.3103/S0095452719040108 (*Особистий внесок здобувача: разом з іншими співавторами – опрацювання, аналіз отриманих даних, написання статті*).

9. **Kozub, N.,** Sozinov, I., Karelov, A., Bidnyk, H., Demianova, N., Sozinova, O., Blume, Ya., and Sozinov, A., 2018. Studying recombination between the 1RS arms from the rye Petkus and Insave involved in the 1BL.1RS and 1AL.1RS translocations using storage protein loci as genetic markers. *Cytology and Genetics*, 52(6), pp.440-447.

https://doi.org/10.3103/S0095452718060063 (*Особистий внесок здобувача: планування експерименту*, *створення рослинного матеріалу, ідентифікація алелів запасних білків і транслокацій, опрацювання і аналіз отриманих даних, разом з іншими співавторами проведення експерименту, написання статті*).

10. **Козуб, Н.О**., Созінов, І.О., Бідник, Г.Я., Дем`янова, Н.О., Созінова, О.І., Карелов, А.В., Пилипенко, Л.А., Блюм, Я.Б. та Созінов О.О., 2018. Створення і дослідження матеріалу *Triticum aestivum* L. з інтрогресіями від *Aegilops biuncialis* Vis. *Фактори експериментальної еволюції організмів,* 23, с.297-301. DOI: https://doi.org/10.7124/FEEO.v23.1031 (*Особистий внесок здобувача: планування експерименту, створення рослинного матеріалу, ідентифікація алелів, аналіз отриманих даних, разом зі співавторами – проведення експерименту*, *написання статті)*.

11. Созінов, І.О., **Козуб, Н.О.**, Карелов, А.В., Пилипенко, Л.А., Бідник, Г.Я., Дем`янова, Н.О., Блюм, Я.Б. та Созінов О.О., 2017. Порівняння груп сортів *Triticum aestivum* L. Степу і Лісостепу України за маркерами господарчо-важливих генів *Фактори експериментальної еволюції організмів,* 21, с.193-198. DOI: https://doi.org/10.7124/FEEO.v21.834 (*Особистий внесок здобувача: ідентифікація алелів, аналіз отриманих даних, разом зі співавторами – планування та проведення експерименту*, *написання статті)*.

12. **Козуб, Н.О.**, Созінов, І.О., Бідник, Г.Я., Дем`янова, Н.О., Блюм, Я.Б., та Созінов, О.О., 2017. Перехресне запилення у пшениці *Triticum aestivum* L. і її дикого родича *Aegilops biuncialis* Vis. *Фактори експериментальної еволюції організмів,* 21, с.143-147. DOI: https://doi.org/10.7124/FEEO.v21.824 (*Особистий внесок здобувача: планування та проведення експерименту*, *ідентифікація алелів, аналіз отриманих даних, разом зі співавторами – планування та проведення експерименту*, *написання статті)*.

13. **Козуб, Н.О.,** Созінов, І.О., Созінова, О.І., Карелов, А.В. та Блюм, Я.Б., 2017. Оцінка зразків *Aegilops biuncialis* Vis. за часом цвітіння. *Фактори експериментальної еволюції організмів,* 20, с.134-138. DOI: https://doi.org/10.7124/FEEO.v20.750 (*Особистий внесок здобувача: планування та проведення експерименту*, *аналіз отриманих даних, розробка методики оцінки за часом цвітіння, разом зі співавторами –написання статті)*.

14. **Kozub, N.A**., Sozinov, I.A., Karelov, A.V., Blume, Ya.B., and Sozinov A.A., 2017. Diversity of Ukrainian winter common wheat varieties with respect to storage protein loci and molecular markers for disease resistance genes. *Cytology and Genetics*, 51(2), pp.117-129. https://doi.org/10.3103/S0095452717020050 (*Особистий внесок здобувача ідентифікація алелів і асоціацій генів: разом зі співавторами – планування та проведення експерименту, аналіз отриманих даних, написання статті*).

15. **Kozub, N.A.**, Sozinov, I.A., Niniyeva, A.K., Tverdokhleb, Ye.V., Blume, Ya.B., and Boguslavskii, R.L., 2016. Genetic marking of glume color in *Triticum spelta* L. var. *caeruleum* using gliadins. *Cytology and Genetics*, 50(3), pp.168-172. https://doi.org/10.3103/S0095452716030075 (*Особистий внесок здобувача ідентифікація алелів запасних білків, аналіз отриманих даних: разом зі співавторами – планування та проведення експерименту, написання статті*).

16. Созінов, І.О., **Козуб, Н.О,** Бідник, Г.Я., Дем'янова, Н.О., Блюм, Я.Б. та Созінов, О.О., 2016. Озерненість та інші ознаки продуктивності рослин F_1 пшениці м'якої від схрещування форм з транслокаціями 1BL/1RS і 1AL/1RS. *Фактори експериментальної еволюції організмів,* 18, с.154-158. (*Особистий внесок здобувача: планування експерименту*, *створення рослинного матеріалу, ідентифікація алелів запасних білків,*

транслокацій. аналіз отриманих даних, разом зі співавторами – проведення експерименту, написання статті).

17. **Козуб, Н.О**, Созінов, І.О., Бідник, Г.Я., Дем'янова, Н.О., Блюм, Я.Б. та Созінов, О.О., 2016. Генетична колекція *Aegilops biuncialis* Vis. *Фактори експериментальної еволюції організмів,* 18, с.181-185. (*Особистий внесок здобувача: планування експерименту*, *ідентифікація алелів запасних білків, аналіз отриманих даних, разом зі співавторами – проведення експерименту, написання статті)*.

18. **Козуб, Н.О.,** Созінов, І.О., Бідник, Г.Я., Дем`янова, Н.О., Ксиніас, І.Н., Блюм, Я.Б. та Созінов, О.О., 2015. Поліморфізм високомолекулярних субодиниць глютенінів *Aegilops biuncialis* Vis. *Фактори експериментальної еволюції організмів,* 17, с.308-312. (*Особистий внесок здобувача: планування експерименту*, *ідентифікація алелів запасних білків, аналіз отриманих даних, разом зі співавторами – проведення експерименту, написання статті)*.

19. Созінов, І.О., Козуб, Н.О., Бідник, Г.Я., Дем`янова, Н.О., Карелов, А.В., Блюм, Я.Б., Созінов, О.О., 2015. Дослідження реакції рослин пшениці м`якої з транслокацією 1BL/1RS на гамма-опромінення *Фактори експериментальної еволюції організмів,* 16, с.152-155. (*Особистий внесок здобувача: ідентифікація алелів запасних білків, аналіз отриманих даних, разом зі співавторами – планування та проведення експерименту, написання статті)*.

20. **Kozub, N.A**., Boguslavskii, R.L., Sozinov, I.A., Tverdokhleb, Ye.V., Xynias, I.N., Blume Ya.B., and Sozinov A.A., 2014. Alleles at storage protein loci in *Triticum spelta* L. accessions and their occurrence in related wheats, *Cytology and Genetics*, 48(1), pp.33-41. https://doi.org/10.3103/S0095452714010046 (*Особистий внесок здобувача: ідентифікація алелів запасних білків, аналіз і узагальнення отриманих даних: разом зі співавторами – планування та проведення експерименту, написання статті*).

21. Varzakas, T., **Kozub, N**., and Xynias, I.N., 2014. Quality determination of wheat: genetic determination, biochemical markers, seed storage proteins - bread and durum wheat germplasm. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(14), pp.2819-2829. DOI: 10.1002/jsfa.6601(*Особистий внесок здобувача: разом з іншими співавторами – опрацювання і аналіз власних даних, порівняння з літературними даними, написання статті*).

22. **Kozub, N.A**., Motsnyi, I.I., Sozinov, I.A., Blume, Ya.B., and Sozinov A.A., 2014. Mapping a new secalin locus on the rye 1RS arm, *Cytology and Genetics*, 48(4), pp.203–207. https://doi.org/10.3103/S0095452714040021 *Особистий внесок здобувача: ідентифікація алелів запасних білків, разом зі співавторами – планування та проведення експерименту, аналіз отриманих даних, написання статті*).

23. **Kozub, N.A.**, Sozinov, I.A., Blume, Ya.B., and Sozinov, A.A., 2013. Study of the effects produced by gamma-irradiation of common wheat F_1 seeds using gliadins as genetic markers, *Cytology and Genetics,* 47(1), pp.13-19. https://doi.org/10.3103/S0095452713010040 (*Особистий внесок здобувача: ідентифікація алелів запасних білків, аналіз отриманих даних: разом зі співавторами – планування та проведення експерименту, написання статті)*.

24. Нінієва, А.К., **Козуб, Н.О.,** Созінов, І.О., Рибалка, О.І., Леонов, О.Ю., Твердохліб, О.В. та Богуславський, Р.Л., 2013. Характеристика зразків *Triticum spelta* L. за показниками якості зерна та електрофоретичними спектрами запасних білків. *Вісник Українського товариства генетиків і селекціонерів*, 1(1), с.96-105. (*Особистий*

внесок здобувача: ідентифікація алелів запасних білків, разом зі співавторами – планування та проведення експерименту, аналіз отриманих даних, написання статті).

25. **Козуб, Н.А.**, Созинов, И.А., Собко, Т.А., Дедкова, О.С., Бадаева, Е.Д. и Нецветаев, В.П., 2012. Ржаные транслокации у некоторых сортов озимой мягкой пшеницы. *Сельскохозяйственная биология*, 3, с.68–74. doi: 10.15389/agrobiology.2012.3.68rus (*Особистий внесок здобувача: ідентифікація алелів запасних білків та транслокацій, разом зі співавторами – планування та проведення експерименту, аналіз отриманих даних, написання статті*).

26. **Kozub, N.A**., Sozinov, I.A., and Sozinov, AA., 2012. Identification of alleles at the gliadin loci *Gli-U1* and *Gli-M^{b}1* in *Aegilops biuncialis* Vis. *Russian Journal of Genetics*, 48(4), pp.390–395. DOI: 10.1134/S1022795412030052 (*Особистий внесок здобувача: планування та проведення експерименту, збір рослинного матеріалу, створення гібридного матеріалу, ідентифікація алелів запасних білків, аналіз отриманих даних, разом зі співавторами – написання статті*).

27. **Kozub, N.A**., Sozinov, I.A., Xynias, I.N., and Sozinov, AA., 2011. Allelic variation at high-molecular-weight glutenin subunit loci in *Aegilops biuncialis* Vis. *Russian Journal of Genetics,* 47(9), pp.1078–1083. DOI: 10.1134/S1022795411090092 (*Особистий внесок здобувача: планування та проведення експерименту, збір рослинного матеріалу, створення гібридного матеріалу, ідентифікація алелів запасних білків, аналіз отриманих даних, разом зі співавторами – написання статті).*

28. Xynias, I.N., **Kozub, N.A**., and Sozinov, I.A., 2011. Analysis of Hellenic durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. *durum*) germplasm using gliadin and high-molecular-weight glutenin subunit loci. *Cereal Research Communications,* 39(3), pp.415-425. https://doi.org/10.1556/CRC.39.2011.3.11 (*Особистий внесок здобувача: ідентифікація алелів запасних білків, разом зі співавторами – планування та проведення експерименту, аналіз отриманих даних, написання статті*).

29. **Козуб, Н.А.,** Созинов, И.А., Собко, Т.А., Дедкова, О.С., Бадаева, Е.Д. и Нецветаев, В.П., 2010. Идентификация ржаных транслокаций у сортов озимой мягкой пшеницы Богданка и Синтетик. *Научные ведомости БелГУ. Серия Естественные науки,* 15 (86)(12), с.47-54. (*Особистий внесок здобувача: ідентифікація алелів запасних білків та транслокацій, разом зі співавторами – планування та проведення експерименту, аналіз отриманих даних, написання статті*).

30. **Kozub, N.A**., Sozinov, I.A., Sobko, T.A., Kolyuchii, V.T., Kuptsov, S.V., and Sozinov, A.A., 2009. Variation at storage protein loci in winter common wheat cultivars of the Central Forest-Steppe of Ukraine. *Cytology and Genetics*, 43(1), pp.55-62. https://doi.org/10.3103/S0095452709010101 (*Особистий внесок здобувача: розробка методики електрофорезу, ідентифікація алелів запасних білків, разом зі співавторами – планування та проведення експерименту, аналіз отриманих даних, написання статті*).

31. **Kozub, N.A.**, Sozinov, I.A., and Sozinov, A.A., 2008. Dependence of out-crossing indices on genotypic features in common wheat. *Cytology and Genetics*, 42(3), pp.210-215. https://doi.org/10.3103/S0095452708030080 (*Особистий внесок здобувача: ідентифікація алелів запасних білків та перезапилення, розробка показників перезапилення, аналіз отриманих даних, разом зі співавторами – планування та проведення експерименту, написання статті*).

32. **Kozub, N.O**., Xynias, I.N., and Sozinov, I.A., 2007. Diversity in seed storage proteins in substituted hexaploid triticale cultivars (× *Triticosecale* Wittmack). *Cereal Research Communications*, 35(3), pp.1469-1476. https://doi.org/10.1556/CRC.35.2007.3.11

(*Особистий внесок здобувача: ідентифікація алелів запасних білків, разом зі співавторами – планування та проведення експерименту, аналіз отриманих даних, написання статті*).

33. Xynias, I.N., Kozub, N.O., Sozinov, I.A., and Sozinov, A.A., 2007. Biochemical markers in wheat breeding. *International Journal of Plant Breeding*, 1(1), pp.1-9. (*Разом зі співавторами – аналіз літературних даних та власних даних, написання статті*)

34. **Kozub, N.**, Xynias, I.N., Sozinov, I., Lisova, G., Zamani, I.A., Gouli-Vavdinoydi, E., and Roupakias, D.G., 2006. Screening of high-quality bread wheat dihaploid lines by the use of biochemical markers. *Russian Journal of Plant Physiology,* 53(3), pp.396-400. https://doi.org/10.1134/S1021443706030162 (*Особистий внесок здобувача: ідентифікація алелів запасних білків, разом зі співавторами – планування та проведення експерименту, аналіз отриманих даних, написання статті*).

35. Xynias, I.N., **Kozub, N.O.,** and Sozinov, I.A., 2006. Seed storage protein composition of Hellenic bread wheat cultivars. *Plant Breeding*, 125, pp.408-410. (*Особистий внесок здобувача: ідентифікація алелів запасних білків, разом зі співавторами – планування та проведення експерименту, аналіз отриманих даних, написання статті*).

36. **Козуб, Н.О.,** Созінов, І.О., Колючий, В.Т., Власенко, В.А., Собко, Т.О. та Созінов, О.О., 2005. Ідентифікація 1AL/1RS транслокації у сортів м'якої пшениці української селекції. *Цитология и генетика*, 39(4), с.20-24. (*Особистий внесок здобувача: ідентифікація алелів запасних білків, транслокацій, разом зі співавторами – планування та проведення експерименту, аналіз отриманих даних, написання статті).*

37. **Kozub, N.A**., Sozinov, I.A., and Sozinov, A.A., 2004. Effect of an introgression from *Aegilops cylindrica* Host on manifestation of productivity traits in winter common wheat F_2 plants. *Russian Journal of Genetics*, 40(12), pp.1378-1382. DOI: 10.1007/s11177-005-0008-x (*Особистий внесок здобувача: ідентифікація алелів запасних білків, аналіз отриманих даних, разом зі співавторами – планування та проведення експерименту, написання статті*).

38. **Козуб, Н.А**., Созинов, И.А. и Созинов, А.А., 2003. Частота рекомбинации в локусе *Gli-D1* мягкой пшеницы *T. aestivum* L. *Цитология и генетика*, 37(5), с.80–83. *(Особистий внесок здобувача: планування експерименту, ідентифікація алелів запасних білків, виведення формул для оцінки частоти рекомбінації, аналіз даних, разом зі співавторами – проведення експерименту, написання статті).*

39. **Козуб, Н.О.,** Созінов, І.О., Лісова, Г.М., Созінов, О.О., Ксиніас, І.Н., Гоулі-Вавдіноуді, Е., та Роупакіас, Д.Г., 2003. Алельний склад за локусами запасних білків групи грецьких сортів ярої м'якої пшениці. *Цитология и генетика*, 37(6), с.39-40. (*Особистий внесок здобувача: ідентифікація алелів запасних білків, разом зі співавторами – планування та проведення експерименту, аналіз отриманих даних, написання статті)*.

40. **Kozub, N.A**., Sozinov, I.A., and Sozinov, A.A. 2003. Recombination of gliadin genes of chromosome 1D in the common wheat hybrid carrying the introgression from *Aegilops cylindrica*. *Plant Breeding,* 122, pp.86-88. (*Особистий внесок здобувача: ідентифікація алелів запасних білків, рекомбінантів, аналіз отриманих даних, разом зі співавторами – планування та проведення експерименту, написання статті*).

41. **Козуб, Н.А**., Созинов, И.А. и Созинов, А.А., 2001. Сопряженность 1BL/1RS транслокации с качественными и количественными признаками у мягкой пшеницы *T. aestivum*. *Цитология и генетика*, 35(5), с.74-80. (*Аналіз і узагальнення літературних даних, разом зі співавторами – написання статті*).

42. **Козуб, Н.А**. и Созинов, И.А., 2000. Особенность расщепления по аллелям глиадинкодирующего локуса *Gli-B1* у гибридов озимой мягкой пшеницы. *Цитология и генетика*. 34(2), с.69-76. (*Особистий внесок здобувача: розробка методики електрофорезу в кислому середовищі; разом зі співавтором – планування та проведення експерименту, аналіз отриманих даних, написання статті*).

Статті в наукових збірниках і журналах:

43. **Козуб, Н.О**., Созінов, І.О., Бідник, Г.Я., Дем`янова, Н.О., Созінова, О.І., Карелов, А.В., Блюм, Я.Б. та Созінов, О.О., 2017. Створення ліній пшениці м`якої з транслокацією 1BL/1RS, зчепленою з алелем *Glu-B1al. Захист і карантин рослин*, 63, с.77-85. (*Особистий внесок здобувача: планування експерименту*, *створення рослинного матеріалу, ідентифікація алелів і транслокацій, аналіз отриманих даних, разом зі співавторами – проведення експерименту, написання статті)*.

44. **Козуб, Н.О**, Созінов, І.О., Бідник, Г.Я., Дем'янова, Н.О., Блюм, Я.Б. та Созінов, О.О., 2016. Створення ліній пшениці м`якої з рекомбінантним плечем 1RS як джерела нових поєднань генів стійкості до збудників хвороб і шкідників. *Захист і карантин рослин*, 62, с.143-150. (*Особистий внесок здобувача: планування експерименту*, *створення рослинного матеріалу, ідентифікація алелів і транслокацій, аналіз отриманих даних, разом зі співавторами – проведення експерименту, написання статті)*.

45. **Козуб, Н.О,** Созінов, І.О., Блюм, Я.Б. та Созінов, О.О., 2016. Ефекти присутності пшенично-житніх транслокацій з 1RS у гібридів пшениці м`якої та створення ліній з рекомбінантним плечем 1RS. *Збірник наукових праць СГІ-НЦНС*, 27(67), с.117-125. (*Особистий внесок здобувача: планування експерименту*, *створення рослинного матеріалу, ідентифікація алелів і транслокацій, аналіз отриманих даних, разом зі співавторами – проведення експерименту, написання статті)*.

46. **Козуб, Н.О,** Созінов, І.О., Карелов, А.В., Бідник, Г.Я., Дем'янова, Н.О., Блюм, Я.Б. та Созінов, О.О., 2015. Поширеність пшенично-житніх транслокацій 1BL/1RS і 1AL/1RS у сортів пшениці м`якої озимої української селекції. *Захист і карантин рослин*, 61, с.148-155. (*Особистий внесок здобувача: ідентифікація алелів запасних білків, транслокацій, аналіз отриманих даних, разом зі співавторами – планування та проведення експерименту, написання статті)*.

47. **Козуб, Н.О**., Созінов, І.О., Бідник, Г.Я., Дем`янова, Н.О. та Созінов, О.О., 2010. Ідентифікація сортів м`якої пшениці, потенційно стійких до раси стеблової іржі UG99, за допомогою біохімічних маркерів. *Захист і карантин рослин,* 56, с.74-81. (*Особистий внесок здобувача: ідентифікація алелів запасних білків, транслокацій, аналіз отриманих даних, разом зі співавторами – планування та проведення експерименту, написання статті)*.

48. Созінов, І.О., **Козуб, Н.О**., Кириленко, В.В., Дергачов, О.Л., та Васильківський, С.П., 2015. Ідентифікація вихідного матеріалу пшениці озимої миронівської селекції за електрофоретичними спектрами запасних білків. *Агробіологія,* 2, с.46-53. (*Особистий внесок здобувача: ідентифікація алелів запасних білків і транслокацій, разом зі співавторами – планування і проведення експерименту, аналіз отриманих даних, написання статті)*.

49. Созінов, І.О., **Козуб, Н.О**., Бідник, Г.Я., Дем`янова, Н.О., Карелов, А.В., Блюм, Я.Б та Созінов, О.О., 2014. Вплив гамма-опромінення на ознаки продуктивності м'якої пшениці в залежності від генотипу і умов вирощування *Фактори експериментальної еволюції організмів,* 14, с.39-43. (*Особистий внесок*

здобувача: ідентифікація алелів запасних білків і транслокацій, разом зі співавторами – планування і проведення експерименту, аналіз отриманих даних, написання статті).

50. **Козуб, Н.О**., Созінов, І.О., Бідник, Г.Я., Дем`янова, Н.О. та Созінов, О.О., 2014. Різноманітність за локусами запасних білків популяцій *Aegilops biuncialis* Vis. західного побережжя Криму *Фактори експериментальної еволюції організмів,* 14, с.156-160. (*Особистий внесок здобувача: планування експерименту, ідентифікація алелів запасних білків, аналіз отриманих даних, разом зі співавторами – проведення експерименту написання статті).*

51. Заика, Е.В., **Козуб, Н.А**., Созинов, И.А., Созинов, А.А. и Стариченко, В.Н., 2014. Анализ генотипов сортов озимой мягкой пшеницы ННЦ «Институт земледелия НААН» по аллелям локусов запасных белков. *Вестник Белорусской Государственной Сельскохозяйственной Академии,* 4, с.53–57. (*Особистий внесок здобувача: ідентифікація алелів запасних білків: разом зі співавторами – планування та проведення експерименту, аналіз отриманих даних, написання статті*).

52. **Козуб, Н.О**., Созінов, І.О., Бідник, Г.Я., Дем`янова, Н.О. та Созінов, О.О., 2013. Реєстрація зразків-стандартів алелів локусів високомолекулярних субодиниць глютенінів *Aegilops biuncialis* Vis *Фактори експериментальної еволюції організмів,* 13, с.65-69. (*Особистий внесок здобувача: планування експерименту, ідентифікація алелів запасних білків, аналіз отриманих даних, разом зі співавторами – проведення експерименту написання статті).*

53. **Козуб, Н.О**., Созінов, І.О., Бідник, Г.Я., Дем`янова, Н.О., Карелов, А.В., Блюм, Я.Б та Созінов, О.О., 2013. Вплив гамма-опромінення сухих зерен на продуктивність рослин м`якої пшениці, що відрізняються за присутністю житньої 1BL/1RS транслокації. *Фактори експериментальної еволюції організмів,* 12, с.42-46. (*Особистий внесок здобувача: ідентифікація алелів запасних білків і транслокацій, разом зі співавторами – планування і проведення експерименту, аналіз отриманих даних, написання статті).*

54. **Козуб, Н.О**., Созінов, І.О. та Созінов, О.О., 2012. Вплив гама-опромінення зерен F_1 на частоту передачі житньої 1BL/1RS транслокації через гамети у м`якої пшениці. *Фактори експериментальної еволюції організмів,* 4, с.99-104. (*Особистий внесок здобувача: ідентифікація алелів запасних білків і транслокацій, разом зі співавторами – планування і проведення експерименту, аналіз отриманих даних, написання статті).*

55. Созінов, І.О., **Козуб, Н.О.**, Карелов, А.В. та Созінов, О.О., 2012. Мутації за гліадиновими локусами, індуковані гама-опроміненням зерен F_1 м`якої пшениці, *Фактори експериментальної еволюції організмів,* 4, с.198-203. (*Особистий внесок здобувача: ідентифікація алелів запасних білків і мутацій, разом зі співавторами – планування і проведення експерименту, аналіз отриманих даних, написання статті).*

56. **Козуб, Н.А.**, Созинов, И.А. и Созинов, А.А., 2012. Разнообразие крымских популяций дикого сородича пшеницы *Aegilops biuncialis* Vis. по локусам запасных белков *Фактори експериментальної еволюції організмів,* 3, с.455-459. (*Особистий внесок здобувача: планування експерименту, ідентифікація алелів запасних білків, аналіз отриманих даних, разом зі співавторами – проведення експерименту написання статті).*

57. **Козуб, Н.А**., Созинов, И.А, Биднык, А.Я., Демьянова, Н.А, Собко, Т.А., Колючий, В.Т., Нецветаев, В.П. и Созинов, А.А., 2011. Идентификация сортов мягкой пшеницы с эффективным геном устойчивости Sr1RSAmigo к расе стеблевой ржавчины UG99 *Фактори експериментальної еволюції організмів,* 10, с.243-247. (*Особистий внесок здобувача: ідентифікація алелів запасних білків і траснлокацій, разом зі*

співавторами – планування і проведення експерименту, аналіз отриманих даних, написання статті).

58. **Козуб, Н.А**., Созинов, И.А. и Созинов, А.А., 2009. Аллели высокомолекулярных субъединиц глютенинов *Aegilops lorenti, Фактори експериментальної еволюції організмів,* 6, с.140-144. (*Особистий внесок здобувача: планування експерименту, ідентифікація алелів запасних білків, аналіз отриманих даних, разом зі співавторами – проведення експерименту написання статті)*.

59. **Козуб, Н.А**., Созинов, И.А. и Созинов, А.А., 2008. Особенности передачи ржаных транслокаций 1AL/1RS и 1BL/1RS через гаметы у гибридов мягкой пшеницы. *Фактори експериментальної еволюції організмів,* 4, с.163-168. (*Особистий внесок здобувача: планування експерименту, ідентифікація алелів запасних білків, аналіз отриманих даних, разом зі співавторами – проведення експерименту написання статті)*.

60. **Козуб, Н.А**., Созинов, И.А. та Созинов, А.А., 2007. Частота перекрестного опыления у мягкой пшеницы. *Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології. Збірник наукових праць,* 2, Київ: Логос, с.104-108. (*Особистий внесок здобувача: планування експерименту, аналіз отриманих даних, ідентифікація алелів запасних білків, разом зі співавторами – проведення експерименту написання статті)*.

61. **Козуб, Н.А**., Созинов, И.А., Колючий, В.Т. и Созинов, А.А., 2006. Сорта мягкой пшеницы украинской селекции с ржаными 1BL/1RS и 1AL/1RS транслокациями. *Фактори експериментальної еволюції організмів,* 3, Київ: Логос, с.216-220. (*Особистий внесок здобувача: ідентифікація алелів запасних білків, транслокацій, разом зі співавторами – планування та проведення експерименту, аналіз отриманих даних, написання статті)*.

Монографії і розділи в монографіях:

62. Karelov, A., **Kozub, N**., Sozinov, I., Sozinova, O., Mavromatis, A.G., and Xynias, I.N., 2019. Molecular detection of resistance to biotic stress conditions in spring bread wheat cultivars. In: A. Theodoridis, et al., eds., *Innovative approaches and applications for sustainable rural development.* Springer Nature Switzerland AG: Springer Earth System Sciences, pp.305-324. (*Особистий внесок здобувача: планування та проведення експерименту, ідентифікація транслокацій, опрацювання і аналіз відповідних даних; разом з іншими співавторами – узагальнення результатів; написання розділу*).

63. Міняйло А.А., Чайка В.М., Рибалко Ю.В., Гавей І.В., Павленко А.В., **Козуб Н.О**., Зана Мухаммед Махмуд, та Міняйло Н.В., 2019. *Збереження біорізноманіття. Монографія.* А.А. Міняйло ред. Київ, 2019. (*Особистий внесок здобувача: планування та проведення експерименту, опрацювання і аналіз отриманих даних, написання розділу*).

Тези:

64. **Kozub, N.,** Sozinov, I., Bidnyk, H., Demianova, N., Sozinova, O., and Blume, Ya., 2020. Identification of the introgressive-recombinant allele at the *Gli-B1* locus in the common wheat cultivar Lastivka Odeska. В: *Сучасні проблеми генетики, біотехнології і біохімії сільськогосподарських рослин*. Тези доповідей міжнародної наукової конференції, 21 жовтня 2020 р., Одеса, СГІ-НЦНС, с.53-54.

65. **Козуб, Н.О.,** Созінов, І.О., Бідник, Г.Я, Дем`янова, Н.О., Созінова, О.І. та Блюм, Я.Б., 2020. Аналіз показників якості зерна ліній пшениці від гібридизації з *Aegilops biuncialis* Vis. В: *Селекційно-генетична наука і освіта (Парієві читання)*. Матеріали IX Міжнародної наукової конференції, 19 березня 2020 р., Умань, с.70-75.

66. **Козуб, Н.О.,** Созінов, І.О., Бідник, Г.Я., Дем`янова, Н.О., Стариченко, В.М. та Заїка, Є.В., 2019. Генотипи нових сортів пшениці м`якої озимої селекції ННЦ «Інститут землеробства» НААН за локусами запасних білків. В: В.Ф. Камінського, ред. *Наукові читання до 100-річчя від дня народження професора Івана Вікторовича Яшовського*. Матеріали міжнародної наукової конференції, 14–15 серпня 2019 р., Чабани, Вінниця: ТОВ «ТВОРИ», с.36-37.

67. Созінов, І.О., **Козуб, Н.О.,** Созінова, О.І., Бідник, Г.Я., Дем`янова, Н.О., Тищенко, В.М., Гусенкова, О.В., Кучерявий, І., Карелов, А.В. та Блюм, Я.Б., 2019. Генотипування сортів пшениці м'якої полтавської селекції за локусами запасних білків та за геном *Tsn1* чутливості до токсину А *Pyrenophora tritici-repentis*. В: *Еколого-генетичні аспекти в селекції польових культур в умовах змін клімату*. Матеріали міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 90-річчю з дня народження генетика, селекціонера, професора М.М. Чекаліна, 18–19 квітня 2019 р., Полтава, с.100-101.

68. **Козуб, Н.О**., Созінов, І.О. та Блюм, Я.Б., 2019. Частоти алелів мінорного локусу *Gli-A3* в групах українських сортів пшениці м`якої озимої і асоціації з його участю. В: *Світові рослинні ресурси: стан та перспективи розвитку*. Матеріали V Міжнародної науково-практичної конференції, 7 червня 2019 р., м. Київ, с.31-32.

69. **Козуб, Н.О**., Созінов, І.О., Блюм, Я.Б. та Богуславський Р.Л., 2019. Ідентифікація нових гліадинових алелів у сорту пшениці м`якої Миронівська сторічна. В: *Підвищення ефективності селекції і рослинництва у сучасних умовах.* Збірник тез міжнародної наукової конференції, присвяченої пам`яті і науковій спадщині видатного вченого Василя Яковича Юр`єва, яка відбулася 3–5 липня 2019 р. в Інституті рослинництва ім. В.Я. Юр`єва НААН, Харків, с.214-215.

70. **Козуб, Н.О.,** Созінов, І.О., Бідник, Г.Я, Дем`янова, Н.О., Созінова, О.І., Карелов, А.В. та Блюм, Я.Б., 2019. Нові варіанти пшенично-житніх транслокацій з участю плеча 1RS. В: О.О. Непочатенко, відп. ред. *Селекційно-генетична наука і освіта (Парієві читання)*. Матеріали VIII міжнародної наукової конференції 18–20 березня 2019 р. Умань, с.77-81.

71. **Козуб, Н.О.,** Созінов, І.О., Бідник, Г.Я, Дем`янова, Н.О., Созінова, О.І., Карелов, А.В. та Блюм, Я.Б., 2019. Аналіз матеріалу пшениці від гібридизації з *Aegilops biuncialis* Vis. за локусами запасних білків як генетичних маркерів хромосоми 1U. В: О.О. Непочатенко, відп. ред. *Селекційно-генетична наука і освіта (Парієві читання)*. Матеріали VIII міжнародної наукової конференції 18–20 березня 2019 року, Умань, с.81-85.

72. **Козуб, Н.О.,** Созінов, І.О., Карелов, А.В., Созінова, О.І., Блюм, Я.Б. та Созінов, О.О., 2018. Секалінові локуси як маркери для ідентифікації рекомбінантних плечей 1RS у складі пшенично-житніх транслокацій пшениці м`якої. В: *Біотехнологія – іноваційний шлях розвитку селекції рослин*. Тези доповідей Міжнародної наукової конференції, Одеса, 8-10 жовтня 2018 р., Одеса: Агропринт, с.128-129.

73. **Козуб, Н.О.,** Созінов, І.О. та Блюм, Я.Б., 2018. Створення ліній пшениці м`якої озимої з алелем локусу *Glu-U1* від *Aegilops biuncialis* Vis., пов`язаним з високою якістю зерна. В: *Світові рослинні ресурси: стан та перспективи розвитку*. Матеріали IV Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 95-річчю

сортовипробування в Україні, 7 червня 2018 р., м. Київ, Міністерство аграрної політики та продовольства України, Український інститут експертизи сортів рослин, Вінниця: ТОВ «Нілан-ЛТД», с.36–38.

74. **Козуб, Н.О.**, Созінов, І.О., Бідник, Г.Я., Дем`янова, Н.О., Блюм, Я.Б. та Созінов, О.О., 2017. Частота перехресного запилення у пшениці *Triticum aestivum* L. і її дикого родича *Aegilops biuncialis* Vis. В: О.О. Непочатенко, відп. ред. Матеріали VI міжнародної наукової конференції Умань: Видавець «Сочінський», 2017, с.101-105.

75. **Козуб, Н.О.** та Созінов, І.О., 2017. Ідентифікація нових алелів запасних білків пшениці м`якої. В: *Світові рослинні ресурси: стан та перспективи розвитку*. Матеріали ІІІ Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 15-річчю створення Українського інституту експертизи сортів рослин, 7 червня 2017 р., м. Київ, Міністерство аграрної політики та продовольства України, Український інститут експертизи сортів рослин, Вінниця: ТОВ «Нілан-ЛТД», с.46-48.

76. **Козуб, Н.О**, Созінов, І.О., Бідник, Г.Я., Дем'янова, Н.О., Блюм, Я.Б. та Созінов, О.О., 2016. Характеристика генетичної колекції дикого родича пшениці *Aegilops biuncialis* Vis. В: О.О. Непочатенко, відп. ред. *Селекційно-генетична наука і освіта.* Матеріали міжнародної наукової конференції, Умань, 18-20 березня 2016 р., с.123-125.

77. **Козуб, Н.О**, Созінов, І.О., Блюм, Я.Б. та Созінов О.О., 2016. Деякі ефекти присутності пшенично-житніх транслокацій з 1RS в геномі пшениці м`якої та створення ліній з рекомбінантними транслокаціями. В: *Сучасні напрями селекційного удосконалення пшениці*. Матеріали міжнародної конференції, присвяченої 100-річчю селекції пшениці в Селекційно-генетичному інституті – Національному центрі насіннєзнавства і сортовивчення, Одеса, 1-3 червня 2016 р., НААН, СГІ, Міністерство аграрної політики та продовольства України, Український інститут експертизи сортів рослин, Вінниця: ТОВ «Нілан-ЛТД», с.94–95.

78. **Козуб, Н.О**., Созінов, І.О., та Созінов, О.О., 2016. Створення ліній пшениці м`якої з транслокацією 1BL/1RS, зчепленою з алелем надвисокої якості *Glu-B1al.* В: *Світові рослинні ресурси: стан та перспективи розвитку.* Матеріали ІІ Міжнародної науково-практичної конференції, 3 листопада 2016 р., Київ, Міністерство аграрної політики та продовольства України, Український інститут експертизи сортів рослин, Вінниця: Нілан-ЛТД, с.45-47.

79. **Козуб, Н.О**., Созінов, І.О., Бідник, Г.Я., Дем`янова, Н.О., Блюм, Я.Б. та Созінов, О.О., 2015. Колекція зразків-стандартів алелів запасних білків для збереження та контролю різноманіття генетичних ресурсів дикого родича пшениці *Aegilops biuncialis* Vis. *Екологічна безпека та збалансоване природокористування в агропромисловому виробництві*. Матеріали Міжнародної науко-практичної конференції, Київ, 1–3 липня 2015р., с.88-91.

80. Созінова, О.І., **Козуб, Н.О**. та Пірко, Н.М., 2014. Аналіз різноманітності запасних білків *Dasypyrum villosum* В: *Збагачення генетичного різноманіття рослин*. Тези Міжнародної наукової наради, Харків, 8-9 жовтня 2014 р, с.128-129.

81. **Козуб, Н.О**., Созінов, І.О., Бідник, Г.Я., Дем`янова, Н.О. та Созінов, О.О., 2014. Створення колекції зразків-стандартів алелів локусів запасних білків *Aegilops biuncialis* В: О.О. Непочатенко, відп. ред. *Генетика і селекція: досягнення та*

проблеми. Тези доповідей міжнародної наукової конференції, Умань, 18-20 березня 2014 р., с. 51-52.

82. **Козуб, Н.А**., Созинов, И.А. и Созинов А.А., 2012. Эффекты присутствия ржаной 1AL/1RS транслокации в геноме мягкой пшеницы. *Биологизация адаптивно-ландшафтной системы земледелия – основа повышения плодородия почвы, роста продуктивности сельскохозяйственных культур и сохранения окружающей среды*. Материалы Всерос. научно-практ. конференции БелНИИСХ Россельхозакадемии, Белгород, 12–13 июля 2012 г., Белгород: Отчий край, с.283-288.

83. Созінов, І.О., **Козуб, Н.О**., Рябчун, В.К. та Созінов, О.О., 2010. Запасні білки як генетичні маркери для аналізу зразків тритикале. В: *Modern biotechnology of agricultural plants and biosafety.* Матеріали міжнародної науково-практичної конференції, 7–10 вересня 2010 р., Одеса, с 56

84. **Kozub, N.A**., Sozinov, I.A. and Sozinov, A.A., 2010. Out-crossing in common wheat. In: Abstracts of oral and poster presentations of the 8th International Wheat Conference, 1–4 June 2010, St. Petersburg, Russia, pp.53-54.

85. **Козуб, Н.А**., Созинов, И.А., Собко, Т.А., Колючий, В.Т., Власенко, В.А., Нецветаев, В.П. и Созинов, А.А., 2010. Сорта мягкой пшеницы украинской и российской селекции с геном устойчивости к стеблевой ржавчине $Sr1RS^{Amigo}$. В: *Управление продукционным процессом в агротехнологиях 21 века: реальность и перспективы*. Материалы Международной научно-практической конференции, посвящ. 35-летию образования Белгородского научно-исследовательского института сельского хозяйства. 15–16 июля 2010 г., Белгород: «Отчий край», с.222-225.

86. **Козуб, Н.О.**, Созінов, І.О., Созінов, О.О. та Колючий, В.Т., 2006. Сорти з житніми транслокаціями в миронівській генетичній колекції озимої м'якої пшениці. В: *Інтегрований захист рослин. Проблеми та перспективи*. Матеріали міжнародної науково-практичної конференції, 13–16 листопада, 2006 р., Київ, с.185-186.

АНОТАЦІЯ

Козуб Н.О. Різноманітність та ефекти кластерів проламінових генів *Triticum aestivum* L. та споріднених видів. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.22 — молекулярна генетика – Інститут захисту рослин НААН України – Державна установа «Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії наук України», Київ, 2021.

Робота присвячена вивченню різноманітності кластерів проламінових генів (алелів проламінових локусів). За результатами аналізу колекцій генотипів *Triticum aestivum* L., проведення гібридологічного аналізу, мутагенезу, створення гібридного матеріалу з інтрогресіями, у тому числі від гібридизації з *Aegilops. biuncialis* Vis., ідентифіковано низку нових алелів проламінових локусів, зокрема тих, що є результатом внутрішньолокусної рекомбінації, мутацій, інтрогресії, які є чинниками мінливості цих локусів. Визначено частоту поперечного розщеплення за центромерою хромосоми 1U у гібридів *T. aestivum*, моносомних за 1U *Ae. biuncialis*, та виявлено більшу частоту втрати пліч 1US, ніж 1UL. Доповнено інформацію про генетичний контроль секалінів: картовано новий секаліновий локус *Sec-N* дистально

від *Sec-1*. Досліджено поширеність та виявлено низку нових ефектів наявності транслокацій з участю плеча 1RS в геномі пшениці м'якої. На основі дослідження різноманітності кластерів проламінових генів тетраплоїдних і гексаплоїдних пшениць та тритикале визначено невипадкові асоціації певних алелів проламінових локусів та ДНК-маркерів генів стійкості до збудників хвороб у *T. aestivum* та ідентифіковано спільні алелі, зокрема, локусу *Gli-B1*. Визначено алельний склад і показники різноманітності за проламіновими локусами зразків *Dasypyrum villosum* (L.) Candargy та *Ae. biuncialis* з популяцій Кримського півострова. Створено генетичну колекцію *Ae. biuncialis* за алелями локусів запасних білків *Glu-U1, Glu-M^{b}1*, *Gli-U1, Gli-M^{b}1*, у якій зафіксовано від 47% до 100% різноманітності алелів за цими локусами українських популяцій *Ae. biuncialis*.

Ключові слова: алелі, кластери генів, гліадини, високомолекулярні субодиниці глютенінів, проламіни, внутрішньолокусна рекомбінація, мутації, інтрогресія, різноманітність, 1BL.1RS, 1AL.1RS, *Triticum aestivum, T. durum, T. spelta, T. dicoccum, Triticosecale, Dasypyrum villosum, Aegilops biuncialis*

SUMMARY

Kozub N.O. Diversity and effects of of prolamin gene clusters in *Triticum aestivum* L. and related species. – Manuscript.

Thesis for the scientific degree of Doctor of Science in Biology, the speciality 03.00.22 – Molecular Genetics. Institute of Plant Protection of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine. – Institute of Food Biotechnology and Genomics of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, 2021.

The thesis is devoted to the study of the diversity of prolamin gene clusters (alleles at prolamin loci) in *Triticum aestivum* L. and its cultivated and wild relatives and the effects of certain prolamin alleles. Based on the analysis of collections of genotypes of *T. aestivum*, hybridological analysis, mutagenesis, development of hybrid material with introgressions, including from crosses with *Aegilops biuncialis* Vis., we identified a number of new alleles at prolamin loci, in particular those resulting from intralocus recombination, mutations, and introgression. The frequency of mutations at gliadin loci induced by gamma-irradiation of dry seeds at a dose of 200 Gy was 7.4%. In *T. aestivum* hybrids with univalent *Ae. biuncialis* chromosome1U, the frequency of centric misdivision was determined to be 9%, and the frequency of the loss of the 1US arm was higher than 1UL. The introgressed allele *Glu-U1b* from *Ae. biuncialis* was associated with high grain quality indices.

A new secalin locus *Sec-N* was mapped distally from *Sec-1*. Several new 1BL.1RS translocations were identified and lines with recombinant 1RS arms involved in 1BL.1RS and 1AL.1RS were developed. The frequency of carriers of translocations involving the 1RS arm among Ukrainian winter common wheat cultivars (23%) is significantly higher than that among spring ones (8.8%). Using alleles at prolamin loci, some new effects of the presence of the 1RS arm in the common wheat genome were revealed, including transmission via gametes, yield traits and outcrossing indices. It was found that the simultaneous presence of two translocations 1AL.1RS of the Amigo type and 1BL.1RS of the Kavkaz type in *T. aestivum* hybrids leads to a decrease in seed set. The recombination frequency between 1RS within 1AL.1RS and 1BL.1RS in such hybrids was determined to

be 7% (based on the *Sec-1* locus). Using marker-assisted selection, winter common wheat lines with 1BL.1RS of the Kavkaz type linked to the allele *Glu-B1al* were developed. Their SDS-sedimentation volume was found to be on the level of the cultivar Bezostaya 1.

The allelic composition at prolamin loci and genetic diversity of groups of Ukrainian winter common wheat cultivars of different origin were determined. In the groups of these cultivars, we revealed nonrandom associations of some prolamin alleles and DNA markers for disease resistance genes. For the groups of cultivars of the Steppe and the Forest–Steppe of Ukraine of different periods of breeding, gradual changes in frequencies of some prolamin alleles, which correlated with the increase in annual temperature, were shown. Based on the study of the diversity of prolamin gene clusters of *T. aestivum, T. spelta, T. durum, T. dicoccum* and hexaploid triticale, common alleles were revealed, in particular at the *Gli-B1* locus. Analysis of storage protein alleles of *T. dicoccum* accessions revaled that the predominant alleles at *Gli-B1* are subspecies-specific.

The allele composition at the prolamin loci and diversity indices were determined in *Dasypyrum villosum* (L.) Candargy and *Ae. biuncialis* from the populations of the Crimean Peninsula. In *Ae. biuncialis,* we identified 11 alleles at the *Glu-U1* locus, 19 at *Glu-M^{b}1*, 21 at *Gli-U1*, and 12 at *Gli-M^{b}1*. Using various methods of multilocus analysis it was shown that the Crimean populations of *Ae. biuncialis* are divided into two clusters, one of which includes populations of the western region, the other involves populations from the southern and eastern regions of the Crimean Peninsula. The Chersonese population, which is geographically closer to the populations of the west, turned out to be genetically closer to the populations of the south and east of the peninsula. The geographical differentiation of *Ae. biuncialis* by the flowering rate was revealed: the earliest are samples from the east of the Crimean Peninsula. The genetic collection *Ae. biuncialis* with respect to alleles at the storage protein loci *Glu-U1, Glu-M^{b}1, Gli-U1, Gli-M^{b}1* was developed and registered in the National Center for Plant Genetic Resources of Ukraine. The collection represents from 47% to 100% diversity of alleles at these loci in the Ukrainian populations of *Ae. biuncialis*.

Key words: alleles, gene clusters, gliadins, high-molecular-weight glutenin subunits, prolamins, intralocus recombination, mutations, introgression, diversity, 1BL.1RS, 1AL.1RS, *Triticum aestivum, T. durum, T. spelta, T. dicoccum, Triticosecale, Dasypyrum villosum, Aegilops biuncialis*