На правах рукописи

МОХОВ ТИМОФЕЙ ДМИТРИЕВИЧ

ПОИСК И ХАРАКТЕРИСТИКА НОВЫХ АЛЛЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ АЗОТНОГО ОБМЕНА И ИХ ВКЛАД В ХОЗЯЙСТВЕННО-ЦЕННЫЕ ПРИЗНАКИ ПШЕНИЦЫ И ТРИТИКАЛЕ

1.5.7 Генетика

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени кандидата биологических наук

Москва – 2026

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», г. Москва

Научный руководитель: **КОЧЕШКОВА Алина Александровна**
кандидат биологических наук, заведующий лабораторией цифрового фенотипирования для селекции растений Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», г. Москва

Официальные оппоненты: **ПОТОКИНА Елена Кирилловна**
доктор биологических наук, профессор Центра Био- и Медицинских Технологий Сколковского института науки и технологий (Сколтех), г. Москва

ТЮРИН Александр Александрович
кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории функциональной геномики Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, г. Москва

Ведущая организация: Федеральный исследовательский центр «Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск

Защита состоится «___» _____ 202__ г. в _____ часов на заседании Диссертационного совета 24.1.088.01 (Д 002.214.01) в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук по адресу: 119991, Москва, ГСП-1, ул. Губкина, 3 Тел: (499) 135-62-13, факс: (499) 132-89-62, e-mail: dissovet@vigg.ru.

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Института www.vigg.ru.

Автореферат разослан «___» _____202__ года.

Ученый секретарь диссертационного совета доктор биологических наук И.И. Горячева

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Азот является одним из ключевых элементов, лимитирующих продуктивность злаковых культур, а азотные удобрения – основным агротехническим фактором их урожайности (Прянишников, 1945; Li et al., 2025). При этом растениями усваивается лишь около половины вносимых неорганических азотных удобрений (Hirel et al., 2007; Han et al., 2015); остальная часть теряется из агроэкосистемы, загрязняя воду и атмосферу. В отличие от многих других факторов урожайности, потенциал улучшения здесь сохраняется при неизменных затратах: речь идёт не о повышении доз удобрения, а о более полном использовании уже вносимого азота.

Эффективность использования азота (NUE, Nitrogen Use Efficiency) – признак полигенный. Его контролируют не только гены ферментов азотного метаболизма и переносчиков азота, но и гены, регулирующие процессы роста, старения, развития корневой системы и архитектуры растения в целом (Hirel et al., 2007; Xu et al., 2012; Garnett et al., 2015; Han et al., 2015). Поэтому панель, собранная только из ферментов и переносчиков, охватила бы лишь один ярус этого контроля.

Ключевые гены азотного обмена у пшеницы и тритикале описаны функционально, однако аллельное разнообразие большинства из них у отечественного селекционного материала не охарактеризовано, а молекулярные маркеры на их аллельное состояние не созданы. Для отдельных генов такие данные получены на китайском материале – например, для генов *TaPARG*, связанных с архитектурой растения и признаками продуктивности (Li et al., 2016), и для *TaGS2*, связанных с NUE и урожаем (Gadaleta et al., 2011; Zhang et al., 2017), – но переносить эти результаты на российские коллекции без проверки нельзя. Для других генов, в том числе для семейства AMT, природная изменчивость у пшеницы охарактеризована лишь в первом приближении (Wang et al., 2025). Это создаёт разрыв между знанием о функции гена и возможностью его практического использования в селекции.

Отдельная и практически более острая задача – совместимость генов азотного обмена с генами короткостебельности, которые в своё время произвели революцию в селекции, резко повысив урожайность за счёт устойчивости к полеганию. Белки DELLA, накапливающиеся в короткостебельных растениях, подавляют не только рост стебля, но и поглощение и ассимиляцию азота, поэтому такие сорта используют азот менее эффективно и для реализации потенциала урожайности нуждаются в высоких дозах удобрений (Li et al., 2018). У тритикале ген короткостебельности *Ddw1* обеспечивает устойчивость к полеганию, снижая высоту растения (Tenhola-Roininen, Tanhuanpää, 2010; Siekmann et al., 2021), но одновременно снижает массу 1000 зёрен и задерживает колошение (Kalih et al., 2014). Селекционеру нужен способ компенсировать эти потери, не отказываясь от короткостебельности. Гены, способные такую компенсацию обеспечить, до настоящей работы не были найдены.

Третье обстоятельство – маскирующее действие интрогрессий. В коллекциях яровой мягкой пшеницы Западной Сибири пшенично-ржаная транслокация

1RS.1BL присутствует у 78 % образцов (Chernook et al. 2022). Транслокация несёт крупный блок генов ржи, повысивших урожайность и устойчивость пшеницы к болезням (Moskal et al., 2021), и её собственный эффект на продуктивность может превосходить эффект отдельного локуса азотного обмена. Это означает, что эффект генов азотного обмена нельзя оценивать, не учитывая генетический фон.

Наконец, азотное питание входит в число немногих факторов урожайности, где потенциал улучшения сохраняется при неизменных затратах. Это определяет необходимость многоярусного анализа генов азотного обмена – транспорта, ассимиляции, сигналинга и регуляции роста и архитектуры растения – у отечественного материала с одновременным контролем генов фона: короткостебельности, фотопериодической чувствительности и крупных интрогрессий. Такой состав панели позволяет сопоставить вклад разных ярусов контроля на одном и том же материале и одними и теми же методами, что и определяет актуальность настоящей работы.

Степень разработанности темы. Физиологические основы усвоения азота и роль ключевых переносчиков и ферментов (NRT, AMT, GS, GOGAT) подробно описаны в литературе (Hirel et al., 2007). Гены всех четырёх функциональных групп, представленных в работе, охарактеризованы у модельных растений и злаков. У пшеницы семейство AMT насчитывает более 20 генов (Li et al., 2017), но функции большинства из них и их природная изменчивость малоизученны (Wang et al., 2025). Наиболее изучены гены *GS2*. На китайском материале описаны гаплотипы *TaGS2*, связанные с NUE и урожаем (Li et al., 2011), а экспрессия благоприятного аллеля *TaGS2-2A* повышала перераспределение азота в зерно и урожайность (Hu et al., 2018). Ключевые регуляторы сигналинга азота – транскрипционные факторы NLP. *NLP7* арабидопсиса служит сенсором нитрата (Marchive et al., 2013; Liu et al., 2022). У риса *OsNLP3/4* определяют число зёрен (Wu et al., 2023). *NGR5* связывает азотный сигнал с гиббереллинами, а белки DELLA защищают *NGR5* от разрушения, усиливая кущение у короткостебельных сортов (Wu et al., 2020). Среди регуляторов роста факторы GRF действуют противоположно DELLA (Li et al., 2018), гены *BT2* подавляют поглощение нитрата (Araus et al., 2016), а *TaPARG* влияет на архитектуру и продуктивность (Li et al., 2016). Взаимодействие генов азотного обмена с генами короткостебельности хорошо изучено у риса (Li et al., 2018). Для пшеницы известен лишь пример *TaGS2-2Ab*, эффект которого проявлялся без мутантных *Rht-B1*/*Rht-D1* (Bazhenov et al., 2022). Для тритикале такие взаимодействия не изучены. Таким образом, мировые данные получены на рисе и арабидопсисе, для пшеницы – на китайском материале. Природная аллельная изменчивость этих генов в отечественном материале, её связь с признаками и зависимость от генов фона остаются неизученными, что определяет цель настоящей работы.

Цель исследования: Структурно-функциональный анализ генов азотного обмена (*NLP3, GRF9, BT2, GS2, NGR5, AMT, PARG*) у пшеницы и тритикале, разработка на основе выявленных полиморфных участков молекулярных маркеров

и оценка их вклада в хозяйственно-ценные признаки для маркер-ориентированной селекции.

Задачи:

1. На основе референсного генома мягкой пшеницы (IWGSC RefSeq1.0) и данных литературы верифицировать локализацию и структурно-функциональные характеристики известных генов азотного обмена (*NLP3, GRF9, BT2, GS2, NGR5, AMT, PARG*) и отобрать их в качестве генов-кандидатов для дальнейшего анализа.
2. Секвенировать нуклеотидные последовательности отобранных генов, включая промоторные, кодирующие, и 5′/3′-нетранслируемые области у образцов пшеницы и тритикале различного эколого-географического происхождения.
3. Провести биоинформатический анализ нуклеотидных последовательностей генов на наличие и характер полиморфных участков.
4. Разработать и валидировать молекулярные маркеры (KASP и ПЦР) на основе выявленных полиморфных участков генов, позволяющих идентифицировать аллельные варианты.
5. Определить аллельное состояние изучаемых генов, а также генов, контролирующих архитектуру и развитие растения (*Rht-B1, Ddw1, Ppd-D1*) и пшенично-ржаной транслокации 1RS.1BL в коллекциях пшеницы, тритикале и рекомбинантных линий.
6. Методами ассоциативной генетики оценить статистически значимый вклад аллельных вариантов в хозяйственно-ценные признаки пшеницы и тритикале.

Научная новизна. Впервые получены нуклеотидные последовательности двенадцати генов азотного обмена (*TaPARG-2A, TaPARG-2B, TaPARG-2D, TaNLP3-3B, TaGRF9-6A, TaGRF9-6B, TaGRF9-6D, TaBT2-3A, TaBT2-3D, TaGS2-2A, TaNGR5-1D, TaAMT-2B*), включая промоторные и нетранслируемые области, у сортов пшеницы и тритикале преимущественно отечественной селекции. Показано, что в гомеологических рядах *TaPARG* и *TaGRF9* изменчивость сосредоточена в одном гомеологе и приходится главным образом на некодирующие области.

Впервые в российском селекционном материале описаны полиморфные участки у изученных генов: несинонимичная замена c.793C>T во втором экзоне гена *TaPARG-2A*, приводящая к аминокислотной замене p.(H265Y), интронный полиморфизм c.1824+137G>A гена *TaNLP3-3B* и делеция 12 п.н. в промоторе гена *TaGRF9-6A*, изменяющая состав цис-регуляторных элементов.

На основе выявленных полиморфных участков впервые созданы восемь диагностических маркеров: KASP-маркеры на гены *TaPARG-2A, TaNLP3-3B* и *TaGRF9-6B*, STS-маркер на делецию 12 п.н. в промоторе гена *TaGRF9-6A*, а также маркеры на гены *TaBT2-3A, TaGS2-2A, TaNGR5-1B* и *TaAMT-2B*.

Впервые установлено, что аллель *GRF9-6Ab* с делецией 12 п.н. компенсирует плейотропные потери гена короткостебельности *Ddw1* у тритикале: в присутствии *Ddw1* он ассоциирован с увеличением массы зерна главного колоса на 16,9–19,2%, массы 1000 зёрен на 6,6–11,5% и ускорением колошения на 6,3–6,5 дня. В

отсутствие *Ddw1* тот же аллель снижает массу зерна на 3,5–8,6%, то есть эффект аллеля определяется генетическим фоном.

Впервые показано, что аллель «*A*» гена *TaNLP3-3B* ассоциирован с ускорением колошения и цветения на 2 дня независимо от аллельного состояния гена *Ppd-D1*, снижением высоты растения на 1,3 см и повышением плотности колоса на 2,1% без влияния на компоненты продуктивности.

Впервые установлено, что пшенично-ржаная транслокация 1RS.1BL маскирует фенотипическое проявление гена *TaGS2-2A*: у растений без транслокации различие между аллелями по массе зерна с колоса составляет в среднем 0,5 г (56%), а у растений с транслокацией в среднем на 0,2г (18%). В коллекции яровой мягкой пшеницы Западной Сибири транслокация присутствует у 78% образцов.

Впервые определено распределение аллелей гена *TaGS2-2A* в коллекции яровой мягкой пшеницы Западной Сибири: аллель *TaGS2-2Ab* – 108 образцов (60%), аллель *TaGS2-2Aa* – 60 образцов (33%), остальные образцы гетерозиготны.

Теоретическая значимость работы.

Теоретическая значимость работы состоит в том, что на генах разных уровней контроля эффективности использования азота показано: вклад аллеля гена азотного обмена в хозяйственно-ценные признаки пшеницы и тритикале не является постоянным свойством аллеля и определяется генетическим фоном. Ген короткостебельности, ген фотопериодической чувствительности или крупная интрогрессия могут менять знак эффекта аллеля, полностью маскировать его или быть условием его проявления. Данные о распределении аллельной изменчивости между гомеологами и между кодирующими и некодирующими областями генов расширяют представления о структуре аллельного разнообразия генов азотного обмена у полиплоидных злаков.

Практическая значимость работы.

Практическая значимость работы обусловлена возможностью применения разработанных молекулярных маркеров на аллели генов, ассоциированных с азотным обменом, для создания новых коммерчески ценных сортов пшеницы и тритикале, в программах маркер-ориентированной селекции. Охарактеризованы коллекции сортов и линий пшеницы и тритикале на аллельной состояние генов азотного обмена, которые могут быть включены в селекционные программы по созданию сортов с повышенной эффективностью использования азотных удобрений.

Методология и методы исследования.

Диссертация выполнена с применением современных инновационных методов молекулярной генетики и биотехнологии на высокотехнологичном оборудовании. Достоверность результатов подтверждена корректной статистической обработкой. Методология и методы исследования полностью отражены в разделе «Материалы и методы».

Положения, выносимые на защиту.

1. Полиморфизм гена *TaNLP3-3B* достоверно ассоциирован со скороспелостью пшеницы: аллель «*A*» (SNP c.1824+137G>A) ускоряет колошение

и цветение в среднем на 2 дня ($p < 10^{-30}$), снижает высоту растений на 2,2% и повышает плотность колоса на 2,1% без потери продуктивности, что делает его ключевым маркером для создания раннеспелых форм.

2. Аллель *GRF9-6Ab* гена *TaGRF9-6A* (делеция 12 п.н. в промоторе) у тритикале при наличии гена короткостебельности *Ddw1* ассоциирован с повышением массы зерна с главного колоса на 16,9–19,7% и ускорением колошения в среднем на 6,5 дня, что компенсирует задержку развития, ассоциированную с *Ddw1*, и обосновывает использование этого аллеля в селекции продуктивных короткостебельных тритикале в условиях Центрального Нечерноземья.

3. Аллель *TaGS2-2Aa* гена *TaGS2-2A* (без делеции 10 п.н. в промоторе) оказывает комплексное влияние на элементы продуктивности колоса – он ассоциирован с увеличением массы зерна с колоса в среднем на 30%, числом зёрен в колосе в среднем на 19%, длинной колоса в среднем на 17% и массой 1000 зёрен в среднем на 9%, а редкий аллель *pNGR5-1Ba* гена *TaNGR5-1B* (делеция 4 п.н. в промоторе) ассоциирован с приростом урожайности в среднем на 28,5%, что определяет высокую селекционную ценность обоих маркеров для повышения продуктивности.

4. Ген *TaAMT-2B* демонстрирует двунаправленный эффект: аллель *pAMT-2Bb* повышает урожайность на 13% и массу зерна с колоса на 11%, тогда как аллель *pAMT-2Ba* увеличивает содержание белка в зерне на 3,9% относительно *pAMT-2Bb*, что позволяет дифференцированно отбирать генотипы по продуктивности либо по качеству зерна в зависимости от цели селекции.

Вклад автора. Данная диссертационная работа является результатом четырех лет научных исследований автора. Лабораторная работа, связанная с генотипированием и наработкой ампликонов для секвенирования генов азотного обмена проводилась автором самостоятельно. Статистическая обработка и представление результатов проводились автором самостоятельно. Помощь в подборе праймеров и анализ результатов секвенирования – к.б.н. Баженов Михаил Сергеевич.

Степень достоверности и апробация результатов. Результаты диссертационной работы были представлены на 4 международных конференциях: XXIII Всероссийская молодежная научная конференция с международным участием «Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и сельскохозяйственной микробиологии», 14–16 ноября, 2023, Москва; XXIV Всероссийская молодежная научная конференция с международным участием «Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и сельскохозяйственной микробиологии», 23–27 сентября, 2024, Москва; VIII Съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров, посвященный 300-летию российской науки и высшей школы, 14–19 июня, 2024, Саратов; VIII Международная научная конференция «Генетика, Геномика, Биоинформатика и Биотехнология растений» (PlantGen2025), 2–5 июля, 2025, Новосибирск.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 5 статей в рецензируемых научных журналах, из них 3 в журналах, индексируемых в Web of Science и Scopus, и 2 в журналах из перечня ВАК.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 162 страницах и содержит 23 рисунка и 27 таблиц, и 2 приложения. Работа состоит из титульного листа, оглавления, введения, глав «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты», «Обсуждение», заключения и выводов, списка принятых сокращений, списка литературы, включающего 154 источника.

Благодарности. Автор выражает благодарность к.б.н. Баженову Михаилу Сергеевичу за помощь в обработке результатов секвенирования и подборе праймеров; к.б.н. Дивашуку Михаилу Георгиевичу за координацию работы на протяжении всего исследования; акад. Беспаловой Людмиле Андреевне за предоставление семенного материала и данных полевого фенотипирования коллекций озимой пшеницы и тритикале из НЦЗ имени П.П. Лукьяненко; к.с.-х.н. Игонину Владимиру Николаевичу за предоставление семенного материала и данных полевого фенотипирования коллекции яровой пшеницы.

Автор также благодарит коллективы ФГБНУ «Омский аграрный научный центр», Федерального исследовательского центра «Немчиновка», АО «Щёлково Агрохим» и участников Казахстанско-Сибирской сети по улучшению яровой пшеницы за предоставление семенного материала и данных полевого фенотипирования коллекций яровой и озимой пшеницы.

Особую благодарность автор выражает научному руководителю к.б.н. Кочешковой Алине Александровне за помощь и активное участие на всех этапах исследования.

Исследования выполнены при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 21-76-00043).

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В главе обобщена литература по молекулярно-генетическим механизмам азотного обмена у злаков, прежде всего у пшеницы и тритикале. Рассмотрены источники азота (нитраты, аммоний, органические соединения), пути их поступления и ключевые ферменты ассимиляции – NR, NiR, GS, GOGAT, а также дополнительные ферменты (GDH, AlaAT, AsnS). Показана роль метаболических пулов и ремобилизации азота в формировании урожайности и белковости зерна.

Описана генетическая архитектура NUE: QTL у пшеницы и других злаков, семейства транспортёров AMT (аммоний) и NRT/NPF (нитрат), ферментные гены GS, GOGAT, ASN, AlaAT. Приведены механизмы регуляции азотного обмена: сенсинг нитрата (NRT1.1/NRT1.1B, NLP-факторы), интеграция C/N-сигналов (TOR, SnRK1, Tre6P), гормональная регуляция (ауксины, цитокинины, гиббереллины, АБК) и эпигенетические механизмы.

Особое внимание уделено генам, интегрирующим азотный обмен и архитектуру растения. Показано значение DELLA-белков (в том числе Rht) как репрессоров гиббереллиновой сигнализации, влияющих на NUE. Описаны гены семейства GRF, их взаимодействие с DELLA и роль в компенсации эффектов короткостебельности, а также ген *NGR5* как интегратор гиббереллиновой сигнализации и азотного метаболизма. Приведена характеристика *Ppd* и *Vrn*, колокализующихся с QTL NUE.

Рассмотрены генетические ресурсы (дикие сородичи, местные сорта) и современные подходы: высокопроизводительное фенотипирование и генотипирование, GWAS, мета-анализ QTL, CRISPR/Cas9, геномная селекция и MAS. Завершает главу сравнительная геномика злаков, демонстрирующая консервативность ключевых модулей азотного обмена.

ГЛАВА 2. УСЛОВИЯ, МАТЕРИАЛ, МЕТОДЫ И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1 Растительный материал

Для секвенирования генов использовали 14 сортов озимой мягкой пшеницы и тритикале Васса, Гром, Сила, Паллада, Алексеич, Безостая 100, Зимтра, Ультра 11, Валентин 90, Мудрец (НЦЗ имени Лукьяненко) Ермак (АНЦ «Донской»), Новосибирская 67 (ИЦиГ СО РАН), Алтиго (Франция) и Дублет (Польша). На этапе ассоциативного анализа использовали коллекции пшеницы и тритикале:

1. ФГБНУ «Омский аграрный научный центр» (408 образцов яровой и озимой пшеницы);
2. Национальный центр зерна имени П.П. Лукьяненко (256 образцов озимой мягкой пшеницы и 169 образцов тритикале);
3. Федеральный исследовательский центр «Немчиновка» (76 образцов яровой пшеницы);
4. Полевая опытная станция РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева (45 образцов яровой пшеницы);
5. АО «Щёлково Агрохим» (132 образца озимой пшеницы);
6. Казахстанско-Сибирская сеть по улучшению яровой пшеницы (КАСИБ) (96 образцов яровой пшеницы).

Для получения генотипических и фенотипических данных также использовались рекомбинантные инбредные линии яровой мягкой пшеницы и яровой тритикале. Данные популяции были созданы на технологической базе Полевой опытной станции РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, путем многократного пересева популяций в поле с проверкой аллельного состояния молекулярными маркерами.

2.2 Выделение ДНК

Геномную ДНК выделяли из высушенных в лиофильной сушке листьев и из 4-х дневных проростков CTAB методом (Rogers and Bendich, 1985). Также из размолотого зерна с использованием автоматической выделительной станции AutoPure 96 (AlSheng, Китай) с коммерческим набором реактивов для выделения ДНК МагноПрайм ГМО (ООО «НекстБио», Россия).

2.3 Подбор праймеров для амплификации и секвенирования генов

Номера записей генов находили в базах данных геномов пшеницы, а последовательности генов и фланкирующих областей – в референсном геноме. Из-за аллополиплоидной природы пшеницы и тритикале при подборе праймеров учитывали наличие гомеологов. Праймеры для секвенирования подбирали двумя способами: вручную по выравниванию гомеологов либо автоматически с маскированием повторов и отбором перекрывающихся ампликонов (500–2500 п.н., перекрытие ≥50 п.н.).

2.4 NGS-секвенирование ампликонов

Секвенирование ампликонов по коротким фрагментам проводилось методом NGS на платформе Illumina MiSeq (Illumina Inc, США) в ООО «Геномед». ПЦР-продукты, полученные от разных образцов пшеницы, метили индивидуальными баркодами. После разделения прочтений по баркодам результаты секвенирования были получены по каждому образцу в отдельности.

2.5 Картирование прочтений и выявление полиморфных участков

Качество полученных прочтений было оценено и признано достаточным для дальнейшей работы. На следующем этапе было выполнено картирование коротких прочтений на референсную последовательность. Затем проводилась обработка выравнивания, выявление полиморфных участков и построение последовательности секвенированного аллеля путём внесения изменений в референсную последовательность. Визуализация выравнивания прочтений на референс осуществлялась для контроля качества картирования и идентификации полиморфизмов. Далее было выполнено выравнивание секвенированных последовательностей с последовательностью референсного генома пшеницы сорта Chinese Spring (RefSeq1.0). Границы белок-кодирующей последовательности (CDS) были установлены путём её выравнивания с геномной последовательностью. На заключительном этапе проводилась трансляция нуклеотидной последовательности в аминокислотную.

2.6 Фенотипирование

Для фенотипирования рекомбинантных инбредных линий у каждого растения (главный колос) регистрировали признаки, включающие высоту

растения, длину колоса, число колосков в колосе, массу зерна с колоса, число зерен в колосе, массу 1000 зерен, даты фенологических фаз. Индекс урожайности рассчитывали как отношение массы зерна главного колоса к массе необмолоченного колоса и цветоноса.

2.7 Генотипирование

Для генотипирования растений по аллельным вариантам генов, ассоциированных с азотным обменом, использовали маркеры, разработанные нами в ходе работы и описанные в главе 3, для генов короткостебельности, фотопериодизма и транслокации 1RS.1BL использовали маркеры из литературы. Для каждого коллекционного образца генотипировали 2 растения. Для оценки генетической однородности и подтверждения сортовой принадлежности проводили ПЦР-анализ смешанного образца, включавшего 30 растений.

2.8 Статистическая обработка данных

Статистический анализ выполняли только на гомозиготных растениях, где это было возможно. Для оценки влияния генотипов и их взаимодействия с годом и местом выращивания применяли ANOVA (GLM) с поправкой Бонферрони; post-hoc сравнения – по критерию НСР Фишера ($p<0,05$). Нормальность проверяли по гистограммам и Q-Q графикам, выбросы отсекали по трём медианным абсолютным отклонениям. Для признака «масса зерна на растение» использовали логарифмическое преобразование. Для порядковых признаков (число колосков, побегов, междоузлий, даты колошения и цветения) применяли χ^2-тест и U-критерий Манна–Уитни с коррекцией p-значений по FDR (Benjamini–Hochberg, $q=0,05$).

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1 Молекулярно-генетический анализ гена *TaPARG-2A*

Секвенирование гена *TaPARG-2A* выявило варианты в 5'- и 3'-UTR и межгенной области у большинства образцов, отличные от референсного аллеля Chinese Spring. Выявленный полиморфизм c.793C>T во 2-м экзоне, приводящий к замене p.(His265Tyr), обнаружен у всех образцов, кроме сорта Ермак, который несет аллель «*C*». При этом ген с аллелем «*C*» по прогнозу PROVEAN вероятно нефункционален.

На полиморфизм c.793C>T разработан KASP-маркер. В результате генотипирования 636 образцов пшеницы и 169 тритикале; аллель «*C*» выявлен у сортов Ермак, Jerry, Akord и линии тритикале 0-113t12 (частота 0,5%).

Хотя сверхэкспрессия *TaPARG* у риса снижает высоту, завязываемость семян и массу 1000 зёрен, аллель «*T*», кодирующий функциональный белок, связан с гаплотипами Hap-2A-2 и Hap-2A-3, которые распространены у китайских сортов и

благоприятно влияют на высоту растения, кустистость и массу 1000 зёрен (Li et al., 2016).

3.2 Молекулярно-генетический анализ генов *TaPARG-2B и TaPARG-2D*

При секвенировании гена *TaPARG-2B* не обнаружено значимых отличий от референсной последовательности Chinese Spring, за исключением вариации длины микросателлита (мотив «CT») в шестом интроне. Выявлено 4 варианта: A (82 п.н.) – у группы сортов, включая Ермак, Гром, B (80 п.н.) – у группы сортов, включая Алексеич, Безостая 100 и референсного сорта Chinese Spring, C (82 п.н.) – у сорта Алтиго, D (78 п.н.) – у сорта Сила. В секвенированной последовательности *TaPARG-2D* не обнаружено отличий от референсной последовательности Chinese Spring.

3.3 Молекулярно-генетический анализ гена *TaNLP3-3B*

Секвенирование гена *TaNLP3-3B* выявило три полиморфных участка: синонимичная замена c.234T>C (у всех образцов), интронный SNP c.1824+137G>A и c.*245A>T в 3′UTR; в межгенной области – ещё два SNP. Выделены три гаплотипа: *TaNLP3-3Ba* (Алексеич, Ермак, Паллада, Сила, Васса), *TaNLP3-3Bb* (Алтиго, Безостая 100, Гром, Новосибирская 67, Ультра 11, Зимтра) и *TaNLP3-3Bc* (Chinese Spring).

На SNP c.1824+137G>A разработан KASP-маркер, с помощью которого генотипированы 1013 образцов. Аллель «*A*» достоверно ($p<0,001$) ускоряет колошение и цветение на 2 дня независимо от *Ppd-D1*, снижает высоту на ~1,3 см и повышает плотность колоса на 2,1% без влияния на компоненты урожайности. Совместно с *Ppd-D1* выявлен синергизм по срокам цветения (ускорение на 3 дня на фоне *Ppd-D1a* против 1 дня на фоне *Ppd-D1b*) (Рисунок 1) и антагонистическое взаимодействие по числу зёрен в колосе (в 2023 г. *Ppd-D1a* увеличивает число зёрен на 7% в присутствии «*A*», но снижает на 5% с «*G*»).

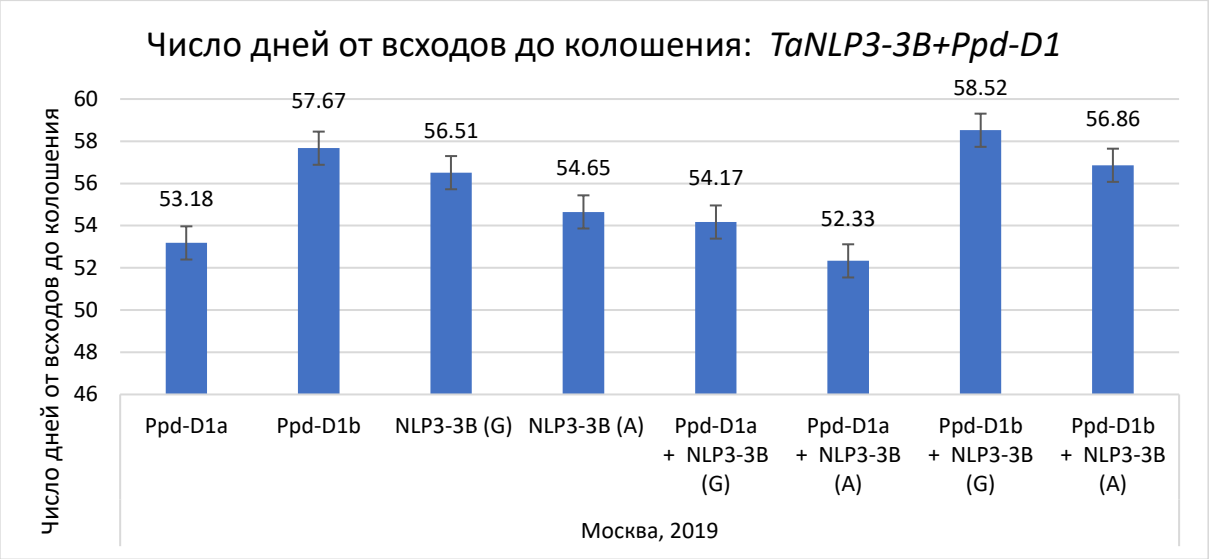

Рисунок 1 – Время между датами появления всходов и наступления колошения у растений пшеницы, имеющих различные гомозиготные генотипы по гену *Ppd-D1* и SNP-маркеру внутри гена *TaNLP3-3B*.

3.4 Молекулярно-генетический анализ гена *TaGRF9-6A*

В результате секвенирования гена *TaGRF9-6A* у пшеницы полиморфные участки обнаружены только в третьем интроне (несколько SNP); у яровой тритикале Дублет выявлены существенные отличия: в промоторе – 14 SNP и делеция 12 п.н., в кодирующей части – четыре несинонимичные замены (p.Pro48Arg, p.Gly188Ser, p.Val195Ile, p.Gly239Asp). На основе делеции 12 п.н. разработан STS-маркер.

С его помощью генотипированы 169 образцов тритикале; аллель *GRF9-6Ab* достоверно ($p<0,05$) увеличивает длину колоса на 0,3–0,7 см. При взаимодействии с *Ddw1* у полукарликовых растений в Москве аллель обеспечивает прибавку массы зерна с колоса на 19,2% (2018) и 16,9% (2019) за счёт увеличения числа зёрен (на 6,8–11,6%) и массы 1000 зёрен (на 11,5% и 6,6%) (Рисунок 2); в Краснодаре (2018) прибавка массы зерна (+19,7%) обусловлена ростом числа зёрен (+16,0%). У носителей *Ddw1* аллель *GRF9-6Ab* повышает индекс урожая (на 2,8–4,0 п.п.) и ускоряет колошение на 6,3–6,5 дня (~10%).

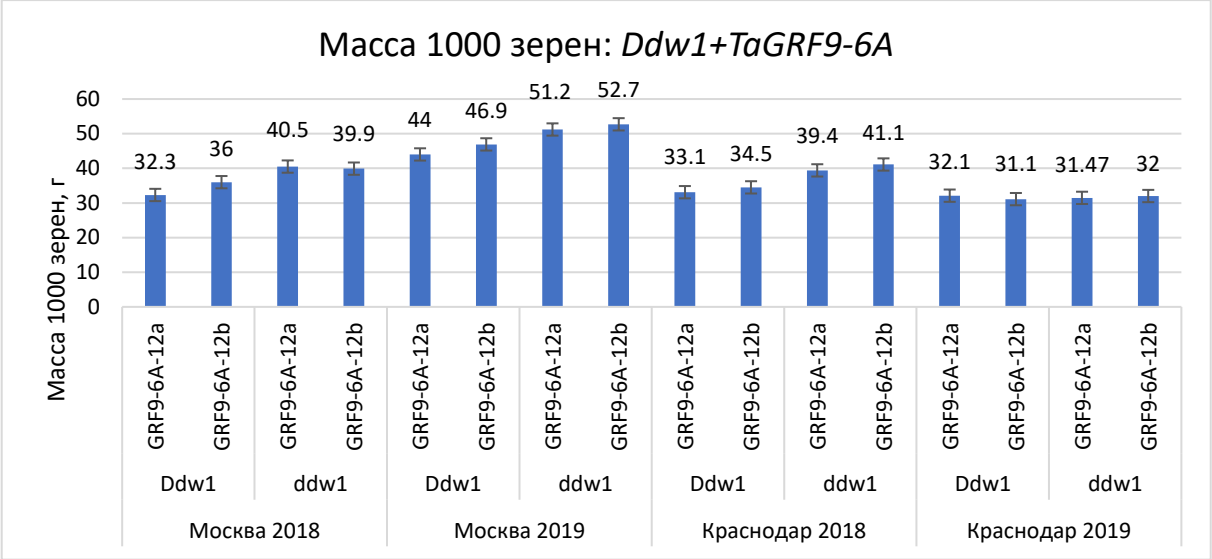

Рисунок 2 – Масса 1000 зерен у растений тритикале, имеющих различные гомозиготные генотипы по гену *Ddw1* и маркеру внутри гена *TaGRF9-6A*

3.5 Молекулярно-генетический анализ генов *TaGRF9-6B и TaGRF9-6D*

По результатам секвенирования гена *TaGRF9-6B* установлено, что у большинства образцов последовательность *TaGRF9-6B* соответствовала референсу Chinese Spring. У сортов Алтиго и Ермак выявлен SNP c.1155C>T (синонимичный), у Новосибирской 67 дополнительно обнаружен c.905A>G, приводящий к замене p.(Asn302Ser), которая по прогнозу PROVEAN не влияет на функцию белка. С использованием разработанного на полиморфизм c.1155C>T KASP-маркера генотипированы 1013 образцов пшеницы из 6 российских коллекций. Аллель «*T*» встречался на 25% чаще, чем аллель «*C*», однако достоверного влияния на фенотипические признаки не выявлено.

Секвенирование гена *TaGRF9-6D* не выявило отличий от референсного сорта Chinese Spring ни у одного из исследованных образцов. В геноме RefSeq1.0 для данного гена аннотировано 5 SNP с частотами 0,1–3%, что указывает на высокую консервативность последовательности.

3.6 Молекулярно-генетический анализ гена *TaBT2-3A*

При секвенировании было установлено, что последовательности *TaBT2-3A* у большинства сортов идентичны, лишь у сорта Ультра 11 обнаружен SNP c.255+65G>A. От референса изученные сорта отличаются по шести SNP и одной динуклеотидной инсерции. SNP c.784T>G приводит к замене p.(Ser262Ala), которая по прогнозу PROVEAN значимо влияет на функцию белка, что указывает на возможную редкую мутацию у Chinese Spring.

На основе данных IWGSC RefSeq1.0 выявлена делеция 60 п.н. в интроне у сортов Cadenza, Julius и диплоидного вида *T. urartu* (отсутствует у Chinese Spring, других сортов базы и секвенированных сортов).

С помощью разработанного STS-маркера генотипированы 259 образцов яровой пшеницы (Омский АНЦ, Немчиновка) и 301 образец (НЦЗ им. П.П. Лукьяненко, РГАУ-МСХА, включая РИЛ Chris Mutant × PI 518620); аллель *BT2-3Aa* встречается значительно чаще, чем *BT2-3Ab*. В Москве (2019 г.) носители *BT2-3Ab* характеризовались снижением массы зерна главного колоса и задержкой колошения; совместное взаимодействие с *Ppd-D1b* давало дополнительную отсрочку колошения на 4 дня ($p<0,001$).

3.7 Молекулярно-генетический анализ гена *TaBT2-3D*

При секвенировании гена *TaBT2-3D* у большинства сортов отличий от референса не обнаружено, за исключением сорта Ультра 11. У него в 4-м экзоне наблюдается резкое снижение глубины секвенирования, что может свидетельствовать о крупной инсерции/делеции. Выявленные полиморфные участки соответствуют последовательности соседнего гена-паралога *TraesCS3D03G0898400*, образовавшегося в результате локальной инверсии, что указывает на вероятность наличия полиморфизма в 4-м экзоне *BT2-3D* у сорта Ультра 11.

3.8 Молекулярно-генетический анализ гена *TaGS2-2A*

Секвенирование гена *TaGS2-2A* выявило два основных аллеля – *TaGS2-2Aa* и *TaGS2-2Ab*, различающиеся делецией 10 п.н. в промоторе, а также три «рекомбинантных» варианта (*TaGS2-2Aa.1* у Ультра 11, *TaGS2-2Ab.1* у Алтиго и химерный у Вассы, вероятно, артефактный). С помощью разработанного STS-маркера генотипированы 917 образцов.

В Омской области (2022 г.) у коллекции яровой пшеницы *TaGS2-2Aa* достоверно ($p<0,001$) превосходил *TaGS2-2Ab* по массе 1000 зёрен (+9%), длине колоса (+17%), числу зёрен (+19%) и массе зерна с колоса (+30%); в 2023 г. значимые различия сохранились только по длине колоса (+11%).

В Омской области в 2023 году у коллекции озимой пшеницы аллель *TaGS2-2Aa* повышал массу зерна с колоса (+11%), массу 1000 зёрен (+4%) и урожайность (+27%), а в 2024 году – урожайность (+14,5%) при снижении числа зёрен в колоске на 4,5%, и в Москве в 2019 году у РИЛ пшеницы ускорял колошение на сутки, что в совокупности свидетельствует о его положительном вкладе в продуктивность, несмотря на разнонаправленные эффекты по отдельным признакам.

При совместном анализе с транслокацией 1RS.1BL выявлен маскирующий эффект: разница по массе зерна с колоса достигает 56% без транслокации против 18% при её наличии. Максимальная продуктивность отмечена при сочетании транслокации и *TaGS2-2Aa*, но различия между аллелями в присутствии транслокации статистически незначимы.

3.9 Молекулярно-генетический анализ гена *TaNGR5-1D*

В гене *TaNGR5-1D* обнаружено лишь 2 SNP в некодирующих областях: c.556+109C>T в 6-м интроне (Безостая 100) и c.*190T>C в 3'UTR (Новосибирская 67); у большинства сортов последовательность соответствует референсной. Поскольку вариабельность *TaNGR5-1D* низкая, проанализированы гомеологи: в гене *TaNGR5-1B* выявлен индел 4 п.н. в промоторе, на который разработан KASP-маркер, различающий гаплотипы *pNGR5-1Ba* (с делецией, редкий, найден в 5 образцах) и *pNGR5-1Bb* (без делеции, обнаружен у 9 образцов мягкой пшеницы, а также у спельты, твёрдой пшеницы и дикой полбы).

С помощью разработанного KASP-маркера генотипированы 892 образца; аллель *pNGR5-1Ba* достоверно ($p<0,005$) повышает урожайность на 15,7% (Курган), 31,2% (Омск) и 38,7% (Челябинск), массу 10 колосьев до обмолота на 17% (Омск) и 21,4% (Челябинск), массу зерна с 10 колосьев на 17% (Омск) и 23,9% (Челябинск), массу 1000 зерен на 12,8% (Челябинск), но сопровождается замедлением развития на 1–2%. В 2022–2024 годах на коллекциях яровой и озимой пшеницы из Омского АНЦ аллель *pNGR5-1Ba* стабильно ассоциирован с задержкой колошения (на 2–4 дня) и восковой спелости (на 2 дня), при этом в 2023 году у яровой пшеницы урожайность была выше на 14%, а в 2024 году у озимой отмечено увеличение длины колоса на 9%.

3.10 Молекулярно-генетический анализ гена *TaAMT-2B*

По результатам секвенирования у сорта Алексеич обнаружена крупная делеция размером 160 п.н. На нее разработан STS-маркер, с помощью которого генотипированы 762 образца пшеницы. Аллель *pAMT-2Ba* ассоциирован с увеличением содержания белка в зерне на 0,52% в абсолютном значении (Москва, 2020 г.); аллель *pAMT-2Bb* ассоциирован с повышением массы 1000 зерен на 6,8–9,7% (Омск, 2023) (Рисунок 3), массы зерна с колоса на 11% (Омск, 2023 г.) и урожайности на 13% (Омск, 2022 г.) ($p<0,05$).

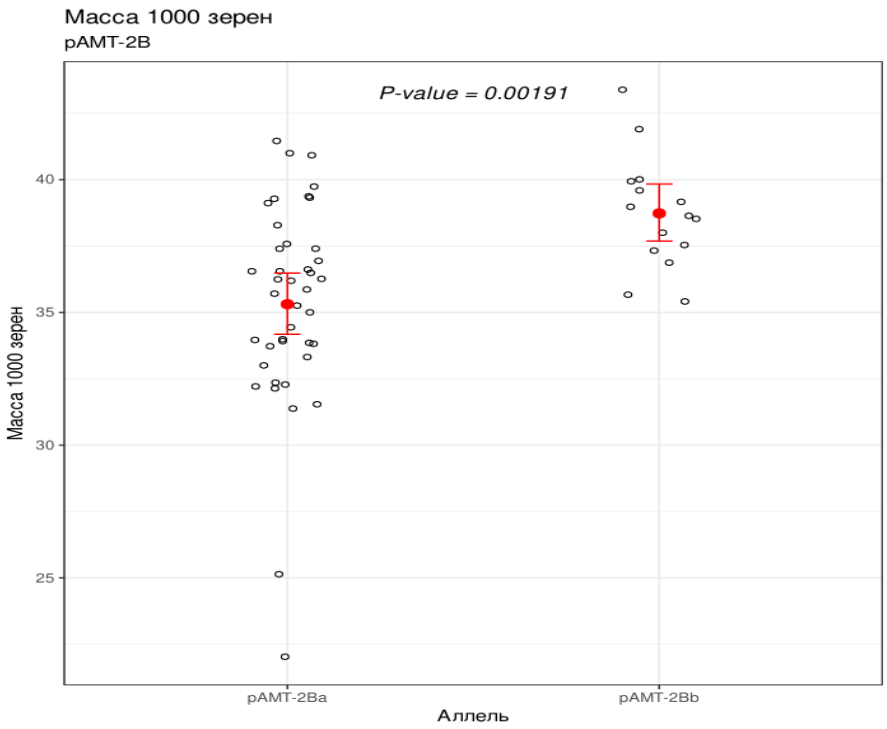

Рисунок 3 – Влияние аллелей гена *TaAMT-2B* на массу 1000 зерен в коллекции яровой пшеницы из Омского АНЦ (183 образца) в 2023 году.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ

4.1 Зависимость эффектов аллелей от генетического фона

Главная закономерность, выявленная в работе, состоит в том, что вклад аллелей генов азотного обмена в хозяйственно-ценные признаки в большинстве случаев не самостоятелен. Величина, а иногда и знак эффекта зависят от аллельного состояния генов короткостебельности, гена фотопериодической чувствительности *Ppd-D1* или от наличия транслокации 1RS.1BL. Для генов, связанных с гиббереллиновой сигнализацией, такая зависимость ожидаема. У риса белки DELLA одновременно регулируют активность фактора GRF4 (Li et al., 2018) и устойчивость белка NGR5 (Wu et al., 2020). Взаимодействие *Ddw1* × *TaGRF9-6A* у тритикале согласуется с этой схемой, но *Ddw1* действует через снижение содержания активных гиббереллинов (Braun et al., 2019).

Второй фон – сроки развития. Взаимодействия *Ppd-D1* × *TaNLP3-3B* по дате цветения и *Ppd-D1* × *TaBT2-3A* по дате колошения показывают, что вклад аллеля частично определяется тем, на какой календарный период приходятся критические фазы развития.

Третий фон – транслокация 1RS.1BL. Она несет крупный блок генов ржи, повысивших урожайность и устойчивость пшеницы к болезням (Crespo-Herrera et al., 2017), и ее собственный эффект превосходит эффект отдельного локуса *TaGS2-2A*. Результаты настоящей работы показывают, что транслокация способна

полностью маскировать эффект другого локуса. Из этого следует, что оценки эффектов генов азотного обмена, полученные на одном генетическом фоне, нельзя переносить на другой, а отбор по таким локусам необходимо вести с одновременным контролем генов фона.

4.2 Сопоставление с мировыми данными о функциях изученных генов

Факторы GRF координируют рост растения и его азотный обмен, а сдвиг баланса между *GRF4* и белками DELLA позволяет сочетать полукарликовость с высокой эффективностью использования азота (Li et al., 2018). Аллель *GRF9-6Ab* в фоне *Ddw1* одновременно снимал два плейотропных недостатка этого гена – снижение массы зерна колоса и задержку колошения. Второе особенно важно, поскольку задержка колошения у носителей *Ddw1* расширяет период уязвимости к фузариозу колоса (Kalih et al., 2014).

Связь аллельного состояния генов пластидной глутаминсинтетазы с эффективностью использования азота и элементами продуктивности ранее показана на китайском материале (Li et al., 2011). Делеция 10 п.н., различающая аллели *TaGS2-2A*, расположена в промоторе, и ее ожидаемое следствие – изменение уровня, а не структуры белка. Преимущественная связь аллеля *TaGS2-2Aa* с массой зерна согласуется с тем, что повышенная экспрессия *TaGS2-2A* у пшеницы усиливала перераспределение азота в зерно и продлевала активную работу флагового листа в период налива (Hu et al., 2018).

У риса гены *OsNLP3* и *OsNLP4* определяют ветвление метелки и число зерен (Wu et al., 2023). У пшеницы аллель «*A*» гена *TaNLP3-3B* был связан прежде всего со сроками колошения и цветения, тогда как на компоненты продуктивности значимо не влиял. Все выявленные полиморфные участки гена синонимичны или расположены в некодирующих областях. Поэтому нельзя исключить, что эффект принадлежит сцепленному локусу хромосомы 3B, и для окончательного ответа необходим анализ экспрессии.

Ген *TaPARG-2A* кодирует транскрипционный фактор семейства AP2/EREBP. На китайском материале благоприятные гаплотипы Hap-2A-2 и Hap-2A-3, связанные с меньшей высотой, меньшей кустистостью и большей массой 1000 зерен, по-видимому, обусловлены той же заменой His/Tyr, которая выявлена в настоящей работе (Li et al., 2016). В отечественном материале аллель «*C*» (His265, как у Chinese Spring) обнаружен лишь у 4 из 805 образцов, то есть отечественная селекция практически закрепила альтернативный аллель «*T*». Сверхэкспрессия гена у риса ухудшала признаки продуктивности (Li et al., 2016), однако это гетерологичная система, и направление действия замены у пшеницы требует экспериментальной проверки на модельных популяциях.

Гены BT у арабидопсиса и риса служат отрицательными регуляторами поглощения нитрата (Araus et al., 2016). В изученных сортах ген *TaBT2-3A* оказался консервативным, и маркер разработан на делецию 60 п.н. в интроне. Поэтому выявленные ассоциации относятся к маркерному локусу, а вопрос, обусловлены ли они самим геном или сцепленным участком хромосомы 3A, остается открытым.

У риса повышенное содержание белка NGR5 у полукарликовых сортов позволяет получать высокий урожай при сниженных дозах азота (Wu et al., 2020). Промоторный индел 4 п.н. гомеолога *TaNGR5-1B* связан с наиболее крупными в работе прибавками урожайности, направление которых воспроизвелось во всех трех точках испытания. Наиболее вероятное объяснение – изменение уровня экспрессии гена, проявление которого зависит от состояния белков DELLA, то есть от аллелей *Rht-B1* и *Rht-D1*. Аллельное состояние этих генов в изученных коллекциях не определялось, поэтому результат требует проверки с их учетом. Удлинение периода до созревания у носителей аллеля *pNGR5-1Ba* означает более длительный налив зерна, но в Западной Сибири и на Южном Урале может повышать риск ранних заморозков.

Функции большинства генов AMT пшеницы изучены слабо (Wang et al., 2025). Аллели *TaAMT-2B* разнонаправленно связаны с массой 1000 зерен и содержанием белка в зерне, воспроизводя известную отрицательную связь этих признаков. Такая связь обычно объясняется разбавлением азота возросшим запасом углеводов в зерне. Поэтому полученные данные пока не доказывают влияния гена именно на поглощение аммония, и для такого вывода необходимо определить общий вынос азота с урожаем.

4.3 Структура аллельного разнообразия

В гомеологических рядах *TaPARG* и *TaGRF9* полиморфные участки сосредоточены в одном гомеологе (2A и 6A соответственно), а остальные гомеологи несут единичные нейтральные замены или мономорфны. В ряду *TaBT2* консервативны оба изученных гомеолога. Возможны два не исключающих друг друга объяснения такой асимметрии. Первое – разная сила отбора по гомеологам, вносящим разный вклад в признак. Второе – история отечественной селекции, основанной на узком круге родительских форм. Различить их можно сравнением с данными панелей мирового разнообразия пшеницы. Кроме того, среди полиморфных участков, на которые удалось разработать маркеры, преобладают варианты в промоторах, интронах и нетранслируемых областях. Для генов регуляторного типа (*NLP3, GRF9, NGR5, BT2*) это ожидаемо, поскольку изменение уровня экспрессии регулятора переносится растением легче, чем изменение структуры белка. Следовательно, поиск полезной изменчивости в таких генах необходимо вести с обязательным анализом промоторных и интронных областей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Работа охватила двенадцать генов-кандидатов, связанных с азотным обменом и регуляцией роста, у мягкой пшеницы и тритикале: выполнено секвенирование, биоинформатический анализ полиморфных участков, для восьми генов созданы диагностические маркеры, проведено генотипирование коллекций и оценка ассоциаций с хозяйственно-ценными признаками.

Главный итог – эффект аллельного варианта гена азотного обмена не является его собственным свойством, а определяется генетическим фоном, что установлено на четырех разных генах: знак эффекта может меняться на противоположный – аллель *GRF9-6Ab* у тритикале в присутствии гена короткостебельности *Ddw1* увеличивает массу зерна главного колоса на 16,9–19,7%, а в его отсутствие снижает на 3,5–8,6%; эффект может быть полностью замаскирован интрогрессией – у растений с транслокацией 1RS.1BL (78% коллекции) различия между аллелями *TaGS2-2A* статистически незначимы, тогда как без транслокации достигают 18–56% по массе зерна с колоса.

Эффект на признак может проявляться только через взаимодействие. Полиморфизм гена *TaNLP3-3B* достоверно не влияет на массу зерна с колоса, число зёрен, массу 1000 зёрен и индекс урожайности, однако его взаимодействие с геном *Ppd-D1* достоверно по длине первого междоузлия, числу зёрен в главном колосе, числу зёрен в колоске и дате цветения. При одном аллеле *TaNLP3-3B* ген *Ppd-D1* увеличивает число зёрен, при другом снижает его. Похожая ситуация наблюдалась для гена *TaBT2-3A*. Взаимодействие по дате наступления колошения у него проявлялось в том, что эффект *Ppd-D1* был вдвое сильнее при *BT2-3Ab* (+9,2), чем при *BT2-3Aa* (+4,3), а эффект *BT2-3A* менял направление в зависимости от *Ppd-D1* (−1,0 при *Ppd-D1a*, +3,9 при *Ppd-D1b*).

Практический вывод: маркер на ген азотного обмена сам по себе не является инструментом отбора, а становится им только в сочетании с маркерами на гены фона – поэтому рекомендовано: для тритикале применять маркер *GRF9-6A* только на фоне *Ddw1* (без него отбор бесполезен и вреден); для *TaGS2-2A* вести анализ раздельно по группам с транслокацией 1RS.1BL и без неё, предварительно определяя её маркером SCM9; для скороспелости использовать KASP-маркер *TaNLP3-3B*, дающий выигрыш в 2 дня без потери продуктивности; при отборе на скороспелость использовать маркер BT2-3A совместно с маркером на *Ppd-D1*, чтобы избежать задержки наступления колошения за счет синергетического взаимодействия их аллелей.

Также получен отрицательный результат: для гомеологов *TaGRF9-6B* и *-6D* достоверных ассоциаций не выявлено, что согласуется с положительным эффектом именно *TaGRF9-6A*, у которого изменён промотор.

В перспективе требуется: экспериментально проверить функциональность аллеля «*C*» *TaPARG-2A* (прогноз PROVEAN указывает на утрату функции); оценить *TaGS2-2A* не менее чем за три года (различия достоверны в 2022 г., но недостоверны в 2023 г.); повторить оценки *TaNGR5-1B* и *TaAMT-2B* на независимом материале с раздельным учётом локаций; расширить систематический анализ взаимодействий между генами азотного обмена и генетического фона; провести маркер-опосредованный отбор на реальном селекционном материале для оценки пригодности созданных маркеров в практике.

ВЫВОДЫ

1. Аллельное разнообразие генов азотного обмена в отечественном селекционном материале пшеницы и тритикале сохранилось, но распределено неравномерно. В гомеологических рядах *TaPARG* и *TaGRF9* оно сосредоточено в одном гомеологе (*TaPARG-2A*, *TaGRF9-6A*), а в пределах генов приходится главным образом на промоторные, интронные и нетранслируемые области. Следовательно, поиск хозяйственно-ценной изменчивости в генах этой группы необходимо вести с обязательным анализом регуляторных областей, а не только кодирующей последовательности.

2. Вклад аллеля гена азотного обмена в хозяйственно-ценные признаки не является постоянным свойством аллеля и определяется генетическим фоном. Ген короткостебельности может менять знак эффекта аллеля (*TaGRF9-6A* × *Ddw1*), крупная интрогрессия – полностью маскировать его (*TaGS2-2A* × 1RS.1BL), а ген фотопериодической чувствительности – быть условием его проявления (*TaBT2-3A* × *Ppd-D1*). Поэтому оценки эффектов, полученные на одном генетическом фоне, нельзя переносить на другой.

3. Природная изменчивость генов семейства GRF позволяет компенсировать плейотропные потери, связанные с короткостебельностью. У тритикале аллель *GRF9-6Ab* в фоне *Ddw1* устраняет два основных недостатка этого гена – снижение массы зерна колоса и задержку колошения. Компенсация зависит от условий среды и устойчиво проявляется в условиях Центрального Нечерноземья.

4. Ген *TaNLP3-3B* или сцепленный с ним участок хромосомы 3B участвует в регуляции сроков колошения и цветения пшеницы независимо от гена *Ppd-D1* и без ущерба для компонентов продуктивности. Это делает маркер на полиморфизм c.1824+137G>A инструментом регулирования скороспелости, дополняющим аллели *Ppd-D1*.

5. Промоторный вариант гена пластидной глутаминсинтетазы *TaGS2-2A* влияет на продуктивность преимущественно через налив зерна, что согласуется с ролью фермента в перераспределении азота в зерно. Поскольку эффект этого локуса маскируется транслокацией 1RS.1BL, присутствующей у 78% образцов коллекции яровой пшеницы Западной Сибири, отбор по нему в этом регионе эффективен только в материале без транслокации.

6. Промоторный вариант гомеолога *TaNGR5-1B* связан с наиболее крупными в работе прибавками урожайности, воспроизводящимися в трех регионах и сопряженными с удлинением периода до созревания. Это указывает на гены *NGR5* пшеницы, как и риса, как на перспективный источник повышения продуктивности.

7. *TaAMT-2B* – единственный из изученных генов, аллели которого связаны с содержанием белка в зерне. Однако разнонаправленность их эффектов на массу 1000 зерен и на белковость указывает скорее на разбавление азота в зерне, чем на изменение его поглощения.

8. Аллель «*C*» гена *TaPARG-2A* в отечественном материале встречается у единичных образцов (4 из 805), что согласуется с гипотезой о его вытеснении в ходе отечественной селекции.

9. Разработанные маркеры на гены азотного обмена становятся инструментом отбора только в сочетании с маркерами генов фона – генов короткостебельности, *Ppd-D1* и транслокации 1RS.1BL.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в рецензируемых зарубежных и отечественных журналах из списка ВАК и/или входящих в перечень Web of Science/Scopus:

1. Kroupin P.Yu., Mokhov T.D., Panchenko V.V., Meglitskaya Ya.S., Bespalova L.A., Chernook A.G., Bazhenov M.S., Kovtunenko V.Ya., Kroupina A.Yu., Karlov G.I., Divashuk M.G. The GRF9-6Ab Allele Compensates for the Pleiotropic Deficits of the *Ddw1* Dwarfing Gene in Triticale // Agronomy. – 2025. – V. 15. – No 12. – P. 2701. DOI: 10.3390/agronomy15122701
2. Мохов Т.Д., Кочешкова А.А., Баженов М.С., Меглицкая Я.С., Архипов А.В., Ермолаев А.С., Черноок А.Г., Дивашук М.Г., Карлов Г.И. Гены азотного обмена в структуре урожая рекомбинантных инбредных линий пшеницы // Биотехнология. – 2024. – Т. 40. – № 7. – С. 100. DOI: 10.56304/S0234275824071013
3. Chernook A.G., Belan I.A., Mokhov T.D., Kroupin P.Yu., Kocheshkova A.A., Bazhenov M.S., Karlov G.I., Mukhordova M.Ye., Rosseeva L.P., Divashuk M.G. Study of the Influence of the Glutamine Synthetase Gene on Agronomically Valuable Traits in Spring Bread wheat in Western Siberia // Nanobiotechnology Reports. – 2024. – V. 19. – No 5. – P. 796-807. DOI: 10.1134/S2635167624601918
4. Bazhenov M., Nazarova L., Mokhov T., Pukhova O., Chernook A., Kocheshkova A., Kroupin P., Karlov G., Divashuk M. A molecular marker within the *NLP3-B1* gene is associated with earliness in spring wheat (*Triticum aestivum L.*) // Agronomy. – 2024. – V. 14. – No 12. – P. 2888. DOI: 10.3390/agronomy14122888
5. Кочешкова А.А., Баженов М.С., Крупин П.Ю., Мохов Т.Д., Меглицкая Я.С., Архипов А.В., Карлов Г.И., Дивашук М.Г., Беспалова Л.А., Пузырная О.Ю., Агаева Е.В., Яновский А.С. Создание нового KASP-маркера на аллельное состояние гена *PARG-2A* у пшеницы // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2023. – № 190. – С. 28-38. DOI: 10.21515/1990-4665-190-005

Статьи в других научных журналах и сборниках, материалах международных и всероссийских конференций:

6. Мохов Т.Д., Кочешкова А.А., Баженов М.С., Меглицкая Я.С., Архипов А.В., Ермолаев А.С., Дивашук М.Г., Карлов Г.И. Разработка молекулярного маркера на ген *BT2* у *Triticum aestivum* и поиск ассоциаций с хозяйственно ценными

признаками // Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и сельскохозяйственной микробиологии XXIV : материалы XXIV конференции молодых учёных с международным участием, Москва, 23–27 сентября 2024 года. – Москва : ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», 2024. – С. 34–35. – DOI 10.48397/q9476-9626-0029-i. – EDN AUIMSX.

7. Мохов Т.Д., Кочешкова А.А., Баженов М.С., Меглицкая Я.С., Архипов А.В., Ермолаев А.С., Черноок А.Г., Дивашук М.Г., Карлов Г.И. Гены азотного обмена в структуре урожая мягкой пшеницы в условиях Омской области // Генетика, геномика, биоинформатика и биотехнология растений (PlantGen2025) : тезисы докладов 8-й Международной научной конференции, Новосибирск, 02–05 июля 2025 года. – Новосибирск: ФИЦ «Институт цитологии и генетики СО РАН», 2025. – С. 143. – DOI 10.18699/PlantGen-2025-143. – EDN BAGSZV.
8. Мохов Т.Д., Кочешкова А.А., Архипов А.В., Ермолаев А. С., Дивашук М. Г., Карлов Г. И. Разработка молекулярных маркеров на гены *NLP3* у *Triticum aestivum* // Международный конгресс «VIII Съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров, посвящённый 300-летию российской науки и высшей школы» : сборник тезисов, Саратов, 14–19 июня 2024 года. – Санкт-Петербург : ООО «Издательский дом "Петрополис"», 2024. – С. 656. – EDN EXJAEQ.
9. Кочешкова А.А., Мохов Т.Д., Литвинов Д.Ю., Ульянова А. А., Баженов М. С., Ульянов Д. С., Дивашук М. Г., Карлов Г. И. Использование методов цифрового фенотипирования для детекции проявления аллельного состояния *TaNGR5-1B* у мягкой пшеницы // Международный конгресс «VIII Съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров, посвящённый 300-летию российской науки и высшей школы» : сборник тезисов, Саратов, 14–19 июня 2024 года. – Санкт-Петербург : ООО «Издательский дом "Петрополис"», 2024. – С. 726. – EDN XQHUMM.
10. Мохов Т.Д., Кочешкова А.А., Баженов М.С., Меглицкая Я.С., Архипов А.В. Разработка KASP-маркера на полиморфизм в гене *PARG-2A* у *Triticum aestivum* // Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и сельскохозяйственной микробиологии XXIII : материалы 23-й Всероссийской молодёжной научной конференции, Москва, 14–16 ноября 2023 года. – Москва: ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», 2023. – С. 28–30. – DOI 10.48397/ARRIAB.2023.23.XXIII.002. – EDN XGSWEU.