

На правах рукописи

КОРЗУН
Виктор Николаевич

**РАЗРАБОТКА И ПРИМЕНЕНИЕ ГЕНОМНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ДЛЯ
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО КАРТИРОВАНИЯ И ПРИКЛАДНОЙ
СЕЛЕКЦИИ ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР**

03.02.07 – Генетика

06.01.05 – Селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений

Автореферат
диссертации на соискание
ученой степени доктора биологических наук

Санкт-Петербург – 2021

Диссертация выполнена в Институте генетики культурных растений (IPK), Гатерслебен, Германия (1995-1998), в селекционно-семеноводческой компании KWS LOCHOW GmbH (впоследствии KWS SAAT SE & Co. KGaA), Айнбек, Германия (1999-2021) и в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки "Федеральный исследовательский центр "Казанский научный центр Российской академии наук", Казань, Российская Федерация (2020-2021).

Официальные

оппоненты: **Афанасенко Ольга Сильвестровна**, доктор биологических наук, профессор, академик РАН, руководитель лаборатории иммунитета растений к болезням Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений» (ВИЗР).

Карлов Геннадий Ильич, доктор биологических наук, профессор, академик РАН, директор Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии» (ФГБНУ ВНИИСБ).

Беспалова Людмила Андреевна, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, академик РАН, заведующая отделом селекции и семеноводства пшеницы и тритикале Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Национальный центр зерна имени П.П. Лукьяненко»

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН 119991, ГСП-1 Москва, ул. Губкина, д. 3.

Защита диссертации состоится 6 сентября 2021 г. в 11:00 часов на заседании диссертационного совета Д006.041.02 при ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова» (ВИР) по адресу: 190031, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская 42, 44. Э-почта: erogozina@vir.nw.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова» (ВИР) и на сайте ВИР: <http://www.vir.nw.ru/>

Автореферат разослан «___» _____ 2021 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор биологических наук

Е.В. Рогозина

*Посвящается моим дорогим учителям:
профессору А.З. Латыпову[†], академику АНБ Л.В. Хотылевой,
член-корр. АНБ Н.А. Картелю[†], профессору Е.В. Ананьеву[†], А. J. Worland[†]*

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Интенсификация сельского хозяйства в современных условиях требует разработки и внедрения новых инновационных подходов в селекции сельскохозяйственных растений. Для успешного решения селекционных задач путём создания новых сортов и гибридов, сочетающих наряду с высокой продуктивностью комплексную устойчивость к вредителям и заболеваниям и высокое качество зерна, особое значение приобретают новые знания в области структурной организации геномов зерновых культур.

Первая молекулярная маркерная система – полиморфизм длин рестрикционных фрагментов (RFLP, ПДРФ), – была применена к геному пшеницы в Англии в середине 1980-х годов. С тех пор использование зондов ДНК-ПДРФ среди зерновых культур является отправной точкой сравнительной геномики (Gale and Devos, 1998). Для дальнейшего сопоставления генетических карт в 1990 году была основана Международная инициатива по картированию злаков (the International Triticeae Mapping Initiative, ITMI), которая привлекла большое внимание к генетике пшеницы и способствовала международному сотрудничеству путём создания общих популяций для картирования, обмену методами картирования, установленными маркерами и другими полученными научными результатами.

Röder, Korzun et al. (1998) опубликовали одну из первых полно-масштабных молекулярных карт гексаплоидной пшеницы, построенную на основании позиций 279 SSR-локусов, и получившую широкое применение во всём мире. В том же году была опубликована первая генетическая карта твёрдой пшеницы с использованием SSR-маркеров (Blanco et al., 1998). Молекулярные маркеры также использовались для картирования локусов количественных признаков (QTL). Значительное количество генов и локусов, контролирующих признаки урожайности и качества зерна, а также устойчивость различных видов злаков к биотическим и абиотическим стрессам было идентифицировано и картировано с помощью ДНК-маркеров. На их основе были теоретически обоснованы селекционные схемы с использованием маркеров. При этом быстро выяснилось, что за такие признаки, как урожайность зерна или качество хлеба, отвечает большое количество QTL, которые сильно зависят от окружающей среды, и большинство из них имеют такой низкий эффект на конечный признак, что они не могут быть обнаружены статистически.

Маркер-ориентированная селекция (MAS) незаменима для интрогрессии моногенных признаков, таких как устойчивость к мучнистой росе и различным видам ржавчины. Хотя MAS ускоряет интрогрессию и

отбор, её использование не может исключить высокую изменчивость популяций патогенов, которые адаптируются к новым генам устойчивости, делая их неэффективными. Таким образом, создание долговременной устойчивости остается важной задачей на будущее.

Для сложных количественных признаков метод MAS оказался слишком дорогостоящим и неэффективным. Выбор нескольких маркеров одновременно фиксирует большую часть соответствующих хромосом и увеличивает риск совместного выбора областей генома/QTL, которые негативно влияют на показатели продуктивности потомства (Miedaner & Korzun, 2012). В данном случае геномная селекция (GS) представляется более перспективной для прогнозирования количественно наследуемых признаков в непроверенных селекционных популяциях на основе геномных моделей, полученных из обширных референсных популяций.

Таким образом, разработка и применение геномных технологий, повышение доступности молекулярного маркирования не только для фундаментальных исследований, но и для практической селекции, являются актуальными направлениями исследований. Для этого требуется решить большое число задач структурной генетики и геномики зерновых культур, часть из которых могут найти свое применение в практических областях.

Цель исследования – создание инновационных молекулярно-генетических технологий и их использование для генетического картирования хозяйственно-ценных признаков, изучения генетических ресурсов, эффективной оценки и отбора селекционного материала для создания перспективных сортов и гибридов зерновых культур.

Для достижения цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Определить молекулярно-генетические маркеры и создать на их основе молекулярно-генетические карты для мягкой пшеницы, твердой пшеницы и ржи.
2. Исследовать возможность использования разработанных молекулярно-генетических маркеров для анализа генетических ресурсов, продуктивности и качества зерна у ячменя, мягкой пшеницы и ржи, а также устойчивости зерновых культур к:
 - облигатным и гемибитотрофным возбудителям вредоносных заболеваний пшеницы, ржи и ячменя;
 - абиотическим факторам среды – засухе, низкотемпературному и осмотическому стрессам.
3. Обосновать эффективность методов геномной селекции для ускоренного получения новых улучшенных сортов и гибридов мягкой пшеницы, ржи и ячменя.

Научная новизна работы. Результаты работы содержат новые знания по генетике пшеницы, ржи, ячменя и имеют значение для частной и сравнительной генетики этих экономически важных зерновых культур. Впервые была создана наиболее полная молекулярно-генетическая карта

мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) с использованием SSR-маркеров (Röder, Korzun et al., 1998). Эта научная работа явилась основой для молекулярно-генетического картирования признаков у пшеницы и имеет более 2200 научных цитирований.

Впервые проведена полная расшифровка генома ржи (*Secale cereale* L.) и создан первый масштабный набор SNP-чипов для этой культуры (Bauer et al., 2017).

Впервые научно обоснован метод геномной селекции для отбора генотипов ячменя по пивоваренным качествам (Schmidt et al., 2016).

Впервые реализован инновационный подход по картированию генов с использованием секвенирования, получения специфических SNP-маркеров и масштабных генетических популяций с более 5000 растений, который доказал свою эффективность для решения задачи по определению генов *Rfp1* (восстановление фертильности) у озимой ржи.

Приоритетное значение имеют результаты разработанных молекулярных маркеров ключевых генов для анализа генетических ресурсов устойчивости зерновых культур к низкотемпературному и осмотическому стрессам и засухе, а также продуктивности и качества зерна.

Получены приоритетные результаты мирового уровня, которые вносят важный вклад и определяют дальнейшее развитие исследований по созданию качественно нового генетического материала.

Разработанные технологии геномной селекции непосредственно используются в практической селекции зерновых культур.

Теоретическая и практическая значимость работы. Значительная часть опубликованных результатов, созданного генетического материала и молекулярных маркеров ключевых генов, определяющих хозяйственно-важные признаки нашли дальнейшее использование в научных исследованиях и в селекционном процессе основных зерновых культур. Экспериментально обоснован вклад геномных технологий и технологий молекулярного маркирования в практику для создания новых сортов и селекционных линий. Проведено всестороннее изучение, детальное картирование с определением генов-кандидатов и создание нового улучшенного генетического материала с геном восстановления фертильности пыльцы *Rfp1* у озимой ржи. Данные работы явились одним из важнейших элементов существенного улучшения селекции гибридной ржи путём значительного уменьшения поражения колоса спорыньёй (*Claviceps purpurea* [Fr.] Tul.), уменьшения риска токсичности продовольственного зерна и повышения стабильности урожая гибридной ржи.

Методология и методы исследования. Детальное описание использованного генетического материала, методов генетического анализа, оценки хозяйственно-ценных признаков и статистической обработки данных приводится в Главе 2 диссертации и в автореферате.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Разработанные технологии генетического маркирования и сконструированные первые молекулярно-генетические карты основных зерновых культур являются основой для решения широкого спектра актуальных задач в селекции, генетике и геномике пшеницы, ржи и ячменя.
2. Созданы системы молекулярных маркеров для управления коллекциями генетических ресурсов зерновых культур, выявления локусов, контролирующих устойчивость к факторам биотического и абиотического стресса, продуктивности и качества зерна у пшеницы, ржи и ячменя.
3. Маркер-ориентированная селекция в сочетании с рациональным использованием генетических ресурсов ржи значительно увеличивает эффективность создания конкурентноспособных гибридов. Высокоэффективное использование генетических ресурсов и маркерной селекции для создания новых высокоурожайных и устойчивых к спорынье гибридов ржи.

Степень достоверности и апробация работы. Объективность и достоверность полученных результатов подтверждена многолетними исследованиями, анализом обширного экспериментального материала, полученного с применением существующих передовых методов, современного лабораторного оборудования, статистической обработкой экспериментальных данных и высокой степенью цитирования опубликованных автором научных работ.

Результаты исследований доложены автором на 115 международных конференциях, съездах и совещаниях, преимущественно в форме пленарных и секционных докладов. Наиболее значимыми являются: Word Grain Forum, June 6-7th, 2009, St.-Petersburg, Russia; 11th International Barley Genetics Symposium, April 16-20th, 2012, Hangzhou, China; 12th International Wheat Genetics Symposium, Yokohama, September 10, 2013; the EUCARPIA International Conference on Rye, Wroclaw, Poland, June 23-26, 2015; 12th International Barley Genetics Symposium, June 26-30th, 2016, Minneapolis, USA; VII Baltic Genetics Congress, Riga, Latvia, October 26th, 2018; Kihara institute for Biological Research, May 13th, 2019, Yokohama, Japan; 5th Conference on Cereals Biotechnology and Breeding, November 4-7, 2019, Budapest, Hungary.

Публикации. Автором диссертации опубликовано более 170 статей в ведущих научных (80% в Q1 и 20% в Q2) изданиях. Научные и селекционные достижения защищены тремя патентными заявками.

Личный вклад автора. Диссертантом лично обоснована концепция диссертационной работы и осуществлён подбор ранее опубликованной научной литературы. Автор принимал непосредственное участие в разработке рабочих гипотез, получении экспериментальных результатов, анализе полученного материала, подготовке к печати научных публикаций,

которые использовались в представленной диссертации. Основные положения и выводы диссертационной работы сформулированы автором лично. В диссертации обобщены результаты научно-исследовательской работы, выполненной в Институте генетики культурных растений (the Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Гатерслебен, Германия) в 1995 - 1998 гг. и KWS SAAT SE & Co. KGaA (Айнбек, Германия) в 1999 - 2021 гг. в рамках совместных проектов по германской национальной программе исследования генома растений GABI (www.gabi.de) и GABI Future в 2000 - 2010 гг., научных программах Plant Biotechnology и Plant Breeding Research (<https://www.pflanzenforschung.de/de/forschung-plant-2030/projekte>) в 2011 - 2020 гг. и FP7, Horizon 2020 исследовательских программах Европейского Союза в 2005 - 2016 годах и в Лаборатории инфекционных заболеваний растений, созданной в Федеральном исследовательском центре "Казанский научный центр Российской академии наук" в рамках мегагранта Минобрнауки № 075-15-2019-1881 в 2019-2021 гг.

Объём и структура и диссертации. Диссертация изложена на 281 странице, содержит 10 таблиц, 83 рисунка. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов и обсуждения, заключения и списка цитированной литературы, содержащего 1365 источников, из них 124 публикаций с участием диссертанта.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В главе на основе опубликованных автором научных работ и литературных источников, дополненных новой научной информацией, показана история создания молекулярных маркеров, маркерных систем и технологий, молекулярно-генетических карт. Описано их использование для прикладных исследований и селекции основных зерновых культур. Особо отмечен прогресс, достигнутый в секвенировании геномов злаков, создании SNP чип-основанных маркерных систем и внедрении геномной селекции на зерновых культурах.

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Объект и предмет исследований

2.1.1 Растительный материал

Объектами исследований являлись гексаплоидная мягкая пшеница *Triticum aestivum* L., ($2n = 2x = 42$, AABBDD), тетраплоидные виды пшеницы: твёрдая *T. turgidum* ssp. *durum* (Desf.) Huns. ($2n = 2x = 28$, AABB), *Triticum dicoccoides*, диплоидные виды пшеницы: *Triticum urartu*, *Triticum monococcum*, *Triticum boeoticum* ($2n = 2x = 14$, AA), *Aegilops tauschii* (Coss.) Schmal ($2n = 2x = 14$, DD) (syn. *A. squarrosa* L., *Triticum tauschii*), виды ячменя: *Hordeum vulgare* L. ($2n = 2x = 14$, HH), *Hordeum vulgare* ssp. *spontaneum* (C. Koch) Thell., *Hordeum bulbosum* L., виды ржи: *Secale cereale* L., *Secale vavilovii* Grossh ($2n = 2x = 14$, RR), *Aegilops markgrafii* ($2n = 2x = 14$, CC), *Triticum ventricosum* (syn.

Gastropyrum ventricosum (Tausch) Á. Löve, ($2n = 2x = 14$), различные коллекции генетического материала (наборы сортов, популяций и др.), цитогенетические коллекции (рекомбинационные, хромосомно-замещённые линии и нулли-тетрасомные линии у пшеницы, пшенично-ржаные хромосомно-дополненные линии и др.) и отдельные сорта и линии (Lo7 и др. у ржи, Chinese Spring и др. у пшеницы, Morex и др. у ячменя).

2.1.2 Популяции для картирования генов и локусов количественных признаков (QTL)

Представительная коллекция европейских озимых (358 сортов) и яровых (14 сортов) мягких пшениц GABI использовалась в работах по GWAS картированию многочисленных признаков, генов и QTL.

Для картирования генов устойчивости к стеблевой ржавчине были созданы и проанализированы три генетические популяции (P1, P2, P4), каждая из которых состояла из 68-70 потомков. Поколения F₂ были далее размножены с использованием метода одной зерновки для получения рекомбинантных инбредных линий.

Для определения генетического разнообразия на уровне отдельных генов, связанных с признаком зимостойкости у ржи (Li et al., 2011), были использованы пять популяций: PR 2733 (Беларусь), EKOAGRO, SMH2502, ROM103 (Польша) и Petkus (Германия). Так как рожь является перекрёстноопыляющимся видом, она очень гетерозиготная. Это приводит к трудностям в определении фазы гаплотипа. Для решения этой проблемы был использован отбор гамет: от 15 до 68 гетерозиготных растений из каждой популяции были скрещены с самоопыляющейся инбредной линией Lo152, в результате чего было получено 201 S₀-поколение растений, каждое из которых имело по одному известному типу гамет. S₀ эквивалентно поколению F₁ – по аналогии с терминами в селекции самоопыляющихся видов.

Для картирования генов и QTL, определяющих устойчивость к низким температурам у ржи (Erath et al., 2017), путём скрещивания самоопыляемой европейской элитной инбредной линии Lo157 (KWS LOCHOW GmbH) и одного специально отобранного растения из морозоустойчивого канадского сорта Puma (Fowler, University of Saskatchewan, Канада) была создана F₂ популяция, состоящая из 273 растений. Эти растения были размножены путём использования метода одной зерновки до поколения F₄. Для того, чтобы обеспечить достаточное количество семян для поколения F₅, случайным образом три одиночных растения из одной линии F₄ были выбраны и самоопылены для получения линий F₅.

Детальное описание всего использованного материала приводится в отдельных научных работах, выполненных при непосредственном участии автора и цитируемых в этой диссертации.

2.2 Методы генетического анализа

Методы представляют собой широкий спектр классических (такие, как фенотипирование растений в полевых условиях с использованием

естественного и искусственного заражения возбудителями заболеваний и др.) и современных методов генетического анализа (такие, как генотипирование растений с помощью молекулярных маркеров и др.) и подробно представлены в опубликованных автором научных работах. Основные методы представлены ниже.

2.2.1 Выделение высокомолекулярной ДНК

Выделение ДНК из проростков пшеницы и ржи проводили согласно методике, опубликованной McCouch et al. (1988). Из индивидуальных зерновок выделяли ДНК согласно методике (Plaschke et al., 1996).

2.2.2 Анализ с использованием RFLP маркеров

Для изучения полиморфизма была отобрана и использована серия из 240 RFLP-клонов, состоящая из кДНК и геномных ДНК-зондов, которые были распределены по всем семи хромосомам *Triticeae*. Источники этих зондов были предварительно описаны Korzun et al. (1998). Используемые функциональные зонды были любезно предоставлены Prof. B. Keller, Institute for Plant Biology, University of Zurich, Switzerland (*Lrk10*), Dr. W. A. Wilson, Cornell University, Ithaca, USA (*WAW1023*), Prof. R. Kunze, Institute for Genetics, University of Munich, Germany (*MSH2*, *MSH3*, *MSH6*), Dr. W. Weschke, IPK Gatersleben, Germany (*HvSUT1*, *HvSUT2*), Dr. H. Bäumlein, IPK Gatersleben, Germany (*TriaIII*, *NASHOR1*) и Dr. U. Baumann, Waite Agricultural Research Institute, Glen Osmond, Australia (*Bm2*).

Расщепление высокомолекулярной ДНК нуклеазами *HindIII*, *DraI*, *EcoRI* и *EcoRV*, гель-электрофорез, Southern-перенос ДНК, маркировку зондов и гибридизацию фильтров проводили с использованием методов, описанных Девос и др. (Devos et al., 1992).

2.2.3 Анализ с использованием SSR маркеров

В качестве матрицы использовали около 70 нг ДНК в 25 мкл реакционного объёма, содержащего 67 мМ Tris-HCl (pH 8.8), 16.6 мМ (NH₄)₂SO₄, 1.6 мМ MgCl₂, 0.1 % Tween 20, 200 мкМ каждого dNTP, 0.25 U *Taq* ДНК полимеразы и 0.48 мкМ праймера. Амплификацию проводили в амплификаторе ДНК в течение 35 циклов. Каждый цикл длился 1 мин при 95°C, 1 мин при 50, 55 или 60°C (в зависимости от индивидуального SSR-маркера) и 30 с при 72°C. За 35 циклами следовала последняя 5-минутная стадия продления при 72°C. Размеры фрагментов рассчитывали с помощью компьютерной программы Fragment Manager версии 1.2 (Фармация / Pharmacia) путём сравнения с внутренними стандартами размеров.

2.2.4 Анализ с использованием SNP маркеров

Для генотипирования пшеницы использовали 90k SNP iSELECT-чип и 35k SNP Affymetrix-чип. Позиции по генетическому картированию взяты с карты Международной инициативы по картированию злаков (ITMI). В общей сложности получено 13 344 и 11 676 картированных маркерных локусов. Для удаления маркеров с минимальной частотой 0,05 минорных аллелей и

>5% отсутствующих данных или гетерозиготных сигналов использовали критерии качества.

Для целей геномной селекции ячменя на пивоваренные качества для генотипического анализа был использован Illumina 9k SNP-чип (Comadran et al., 2012). Исходные данные обрабатывали путём удаления маркеров с малой частотой аллелей ($maf \leq 0,01$), с более 20% отсутствующих данных и более 20% гетерозиготных аллелей. Также были исключены линии с $\geq 20\%$ пропущенных точек данных и $\geq 15\%$ гетерозиготных вызовов. Из 7916 потенциальных маркеров 3 958 (50%) были нанесены на генетическую карту Morex x Barke, полученную Comadran et al. (2012), с общей длиной хромосом 2127,4 сМ.

Для генотипирования ржи использован ржаной 10к-SNP чип, который является собственностью KWS SAAT SE & Co. KGaA, Германия.

2.2.5 Оценка хозяйственно-ценных признаков

Оценку растительного материала по хозяйственно-ценным признакам проводили в полевых условиях Германии, Англии, Польши, Канады и Российской Федерации в зависимости от конкретного исследования и материала.

Фенотипические данные по качественным признакам для мягкой пшеницы были собраны в трёх-восьми средах. Каждая среда рассматривалась как комбинация месторасположения (участка) и года. Полевые испытания проводили с закладкой опытов в виде альфа-решёток с двумя повторами на участок испытаний. Показатели качества пшеницы оценивали с использованием стандартного подхода, основанного на ближней инфракрасной области спектра. Измерения проведены с использованием 400 г зерна с уборного участка поля с помощью прибора OmegAnalyzer G (Bruins Instruments) с применением длин волн 730-1100 нм.

2.2.6 Оценка устойчивости к грибным и вирусным заболеваниям

Инокуляцию растений проводили суспензией, содержащей 50000 спор изолятов *Fusarium graminearum* и *Fusarium culmorum* на 1 мл. Обработки проводили три раза с интервалом в три дня, чтобы учитывать разное время цветения. Заболеваемость фузариозом колоса (FHB) (резистентность I типа) оценивали визуально как процент инфицированных колосьев от 50 учётных колосьев. Степень поражения (устойчивость II типа) оценивали как процент заражённой площади колоса. В каждом эксперименте проведено по три оценки через 20, 28 и 33 дня после первой инъекции. FHBscore рассчитывали для каждой оценки как (заболеваемостьхпоражение)/100, отдельно для трёх повторностей, и средний балл (FHBmean) рассчитывали для каждого эксперимента как среднее арифметическое FHBscore. FHBmean затем использовали в качестве вектора фенотипических наблюдений. Сорты также оценивали по дате колошения и высоте растений в сопутствующем исследовании в восьми различных экспериментах в течение одних и тех же двух сезонов.

Фенотипирование устойчивости пшеницы к почвообитающему вирусу мозаики злаковых (*SBCMV*) и вирусу веретеновидной полосатой мозаики пшеницы (*WSSMV*) (Earth et al., 2016) проводили в трёх населенных пунктах: Гёдниц, Витце и Вальтерниенбург, где почва естественным образом была ими заражена. В 2008 г. было протестировано поколение F₃, а в 2009 году – поколение F₄ каждой популяции. В каждом пункте испытаний было посеяно осенью по 100 линий одной популяции в формате 11 x 10 альфа-решёток в двух повторностях. Родительские формы соответствующих популяций были испытаны в пятикратной повторности в каждом эксперименте. Концентрацию вируса в родителях и потомках определяли в клеточном соке из листьев молодых растений с помощью метода DAS-ELISA (Double Antibody Sandwich Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) согласно Кларку и Адамсу (Clark and Adams, 1977).

2.2.7 Оценка устойчивости к абиотическому стрессу

Морозоустойчивость популяции Lo157 Puma (Erath et al., 2017) оценивали зимой 2011/2012, 2012/2013 и 2013/2014 гг. на двух платформах фенотипирования: в ходе испытаний с контролируемой морозоустойчивостью и в ходе полевых испытаний. При подготовке к тесту растения в течение семи недель яровизировали при температуре 2-3°C и освещённости 8 ч в день. На стадии трёх листьев растения переводили в морозильную камеру при температуре 0°C. Впоследствии температуру снижали до -9°C с шагом ~2°C в сутки. На четвертый или пятый день температуру понижали на 2°C в час, как минимум до -20-23°C. Такую температуру выдерживали в течение одного-двух часов, а затем увеличивали до 5°C. В последующие два дня температуру повышали до 1 и 5°C соответственно. В течение всего цикла замораживания растения содержали в темноте. После этого растения восстанавливались при температуре от 8 до 10°C в течение двух недель, а затем оценивали восстановление после замораживания (REC), где балл 1 соответствует сильно поврежденному растению, а 9 - полностью здоровому растению. В 2011/2012 и 2012/2013 гг. тест на замерзание зимой был проведен в двух морозильных камерах нескольких серий. Испытание на промерзание в 2013/2014 гг. проводили в одной климатической камере, а растения размещали в конструкции с альфа-решётками размером 14 x 15.

Полевые испытания проводили в одной российской точке – Липецке (52° 37' с.ш., 39° 36' О, 160 м над ур. м.) и в трёх канадских точках - Минто (49° 24' с.ш., 100° 01' з.д., 487 м над ур. м.), Портаж-ла-Прайри (49° 58' с.ш., 98° 17' з.д., 262 м над ур. м.) и Саскатуне (52° 8' с.ш., 106° 40' з.д., 481 м над ур. м.). Один участок состоял из 50-70 растений в России и 80-100 растений в Канаде. Оценивали выживаемость и развитие растений после перезимовки через две недели после таяния снега в апреле или мае. Выживаемость измеряли как процент растений, переживших зиму на каждом участке. Развитие растений после перезимовки оценивалось в диапазоне от 1 до 9 баллов, где 1 балл соответствует участку с сильно

повреждёнными растениями и 9 баллов – участку с полностью здоровыми и жизнеспособными растениями.

2.3 Методы статистической обработки данных

Использовали самые современные методы (GBLUP, PcoA, ANOVA и др.), компьютерные пакеты (GenStat, SPSS, SPAGeDi, ASReml-R, TASSEL 3.0, SigmaPlot 11.0., STRUCTURE и др.) и разнообразные научные подходы по статистической обработке. Данная информация подробно представлена в опубликованных автором научных публикациях, отмеченных в списке литературы диссертационной работы. Основные из них представлены ниже.

2.3.1 Построение молекулярно-генетических карт хромосом, групп сцепления и картирование генов

Для построения молекулярно-генетической карты использовали Mapmaker/EXP 3.0 (Lander et al., 1987), для анализа количественных признаков использовали Mapmaker/QTL 1.1 (Paterson et al., 1988). В этой программе используется картографическая функция Халдейна (Haldane, 1919).

2.3.2 Кластерный анализ

Кластерный анализ проводили с помощью пакета программ NTSYS-рc 2.11Q (Rohlf, 1998). Наличие или отсутствие каждого отдельного фрагмента оценивали как 1 или 0 для построения матрицы двоичных данных. Генетическое расстояние рассчитывали для каждой пары строк с использованием разницы в процентах в программе NCLAC компьютерного пакета SYN-TAX IV (Podani, 1990), согласно уравнению: $PD = 1 - 2N_{ij} / (N_i + N_j)$, где N_{ij} – количество фрагментов, общее для строк i и j , а $(N_i + N_j)$ - общее количество фрагментов в обеих строках. В качестве метода кластеризации использовали алгоритм усредненной связи (UPGMA). Дендрограмма была построена с использованием DENDPLOT из того же компьютерного пакета. Генетическое сходство (GS) вычисляли по данным Nei и Lui (1979): $GS = 2N_{ij} / (N_i + N_j) = 1 - PD$.

2.3.3 Анализ генетической структуры популяции

Структура популяции оценена с помощью анализа основных компонентов. Генетические расстояния для анализа популяции основаны на модифицированном Roger's расстоянии, реализованном в R-пакете SelectionTools (Frisch, 2015). Для оценки вероятности количества групп для ярового и озимого ячменя использован критерий Калинского (Calinski, 1974) из R-пакета (Oksanen et al., 2014).

2.3.4 Определение расчетной селекционной ценности (GEBV, estimated breeding values)

Для оценки генетических эффектов SNPs использовали линейную модель (RR-BLUP), описанную Эндельманом (Endelman 2011): $y = X\beta + Zu + \varepsilon$, где y - числовой вектор отрегулированных средств соответствующего признака, β - вектор фиксированных эффектов, X - расчётная матрица фиксированных эффектов (здесь все = 1, поскольку все эффекты

отрегулированы в рамках фенотипического анализа), Z - маркерная матрица, присваивающая маркерные генотипы фенотипам (y) с размерными рядами, равными количеству фенотипов и столбцов, равными количеству маркеров. Генетические эффекты приведены в векторе u, а остаточной ошибкой является ε. Предполагалось, что последние следуют нормальному распределению со средним 0 и дисперсией σ^2_u и σ^2_ε соответственно. Сумма всех эффектов аллелей является GEBV строки.

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Современные подходы к анализу генетических ресурсов зерновых культур

В этой главе рассмотрены эффективные способы использования маркерных систем для характеристики генетических ресурсов и их целенаправленному использованию в селекции зерновых культур. Одним из успешных примеров является применение SSR-маркеров для определения различий образцов диплоидных видов пшеницы для таксономических и эволюционных исследований (Hammer et al., 2000). Для выявления генетической изменчивости у диплоидных видов пшеницы нами были использованы 25 микросателлитных (SSR) маркера на 23 образцах *Triticum urartu*, 26 – *Triticum monococcum* и 24 – *Triticum boeoticum* различного географического происхождения. Сорт мягкой пшеницы 'Chinese Spring' (*Triticum aestivum* L.), один образец *T. araraticum* и один образец *T. dicoccoides* были соотнесены с образцами *T. urartu* и *T. boeoticum*, тесно связанными с гексаплоидными и тетраплоидными видами. Дендрограмма, полученная на основе микросателлитных данных (рис. 1), показала разделение между *T. urartu* и *T. boeoticum*, что способствовало их таксономической дифференциации. *T. monococcum* близок к своему дикому предшественнику *T. boeoticum*, а *T. sinskajae* хорошо вписалась в группу *T. monococcum*.

Мы также использовали 18 отобранных SSR-маркеров, локализованных на геноме D мягкой пшеницы (*T. aestivum* L.), для анализа 113 образцов *Aegilops tauschii* (Coss.) Schmal из коллекции генбанка IPK Gatersleben, Германия (Pestsova et al., 2000). Наибольшее количество аллелей было найдено в образцах из Кавказа (Грузии, Армении и Дагестана), наименьшее – в образцах из Средней Азии (Узбекистана и Туркменистана). Наш результат показал, что все образцы могут быть разделены на две большие группы, согласно их таксономической классификации и географического происхождения.

Исследования показали, что метод использования SSR-маркеров полезен для рациональной классификации материала в генетических банках. Использование ограниченного числа SSR-маркеров является надёжным средством для оценки генетического родства у диплоидных пшениц и родственных видов.

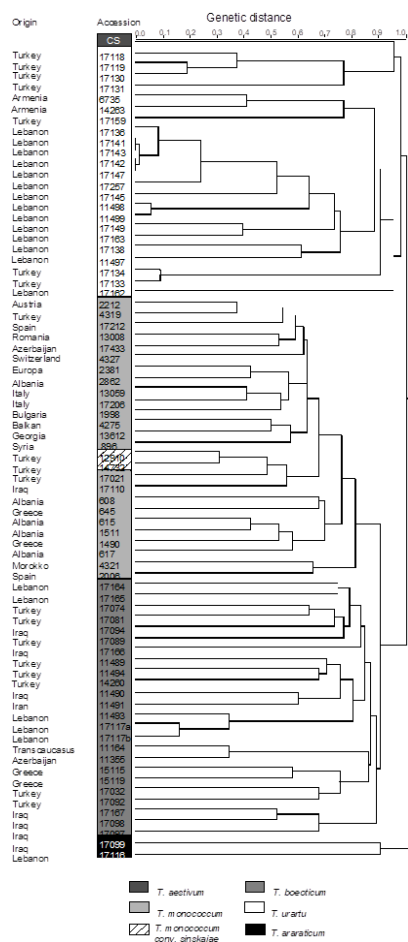


Рисунок 1. Дендрограмма, демонстрирующая генетическое разнообразие, полученное при помощи 25 SSR-маркеров пшеницы на материале, состоящем из 76 образцов диплоидных и полиплоидных пшениц (Hammer et al., 2000).

Получение интрогрессивных форм мягкой пшеницы с чужеродным генетическим материалом от культурных видов и диких сородичей является эффективным приёмом обогащения генофонда для селекции. Замещённые линии широко используются для изучения наследования количественных признаков у пшеницы (Law et al., 1978a; 1978b), и очень важно быть уверенным в аутентичности таких линий для правильной интерпретации полученных научных результатов. Для определения достоверности замещённых линий молекулярные маркеры явились очень эффективным инструментом. Нами была продемонстрирована возможность использования SSR-маркеров для определения корректности хромосомных замещений пшеницы (Korzun et al., 1997). Доказано, что в варианте с маркером WMS 161 (рис. 2, слева) оба варианта А и В замещённых линий имели желаемый фрагмент (аллель) донорного сорта пшеницы Безостая 1, в варианте с маркером WMS 218 (рис. 2, справа) – только замещённая линия А имела желаемый фрагмент (аллель) донора сорта, тогда как линия В несла фрагмент (аллель) реципиентного сорта Capelle-Desprez и не являлась замещённой линией.

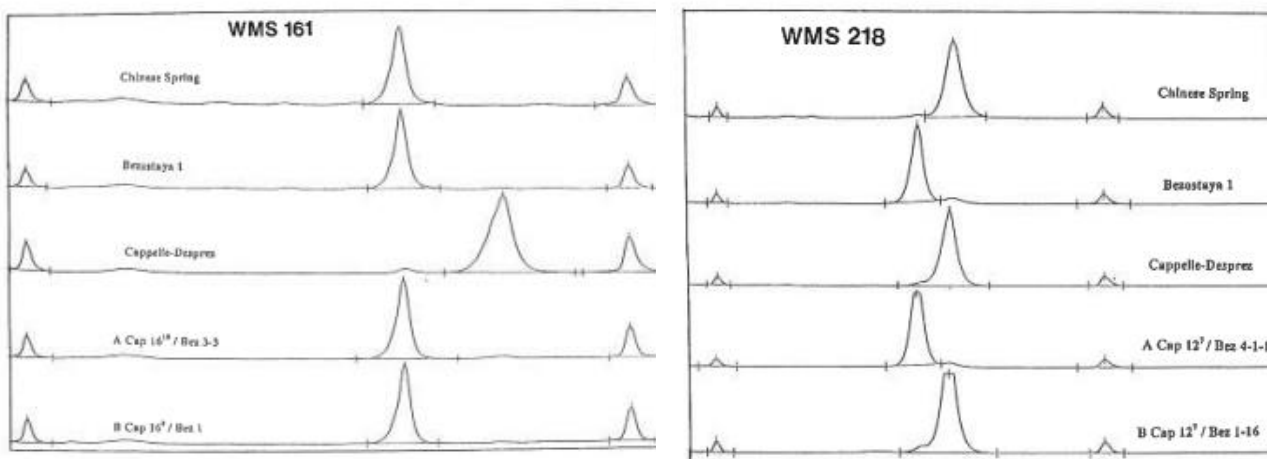


Рисунок 2. Определение достоверности замещённых по хромосоме 3А линий пшеницы Capelle-Desprez (Bezostaya 1) с использованием SSR-маркеров (Korzun et al., 1997).

Данная работа продемонстрировала возможности использования SSR-маркеров для идентификации и локализации межсортовых хромосомных замещений пшеницы.

3.2. Применение методов молекулярной биологии для решения проблемы устойчивости зерновых культур к болезням

Устойчивость к болезням является одним из важнейших признаков, которые интенсивно изучаются и используются в селекции растений. Для каждого селекционера выбор заболеваний, по которым надо проводить селекцию на устойчивость, является критическим решением, поскольку каждый дополнительный признак ведёт к увеличению размеров селекционной популяции и, в конечном результате, к более высоким экономическим затратам на селекцию. Это решение определяется, прежде всего, потерями урожайности, вызванными болезнью, альтернативными мерами по борьбе с болезнями, наличием генетических источников устойчивости, а также трудоёмкостью селекционного процесса.

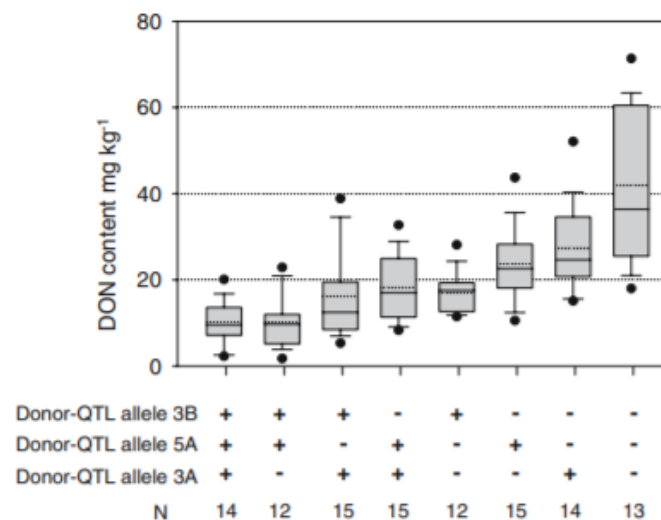
В этой главе представлены результаты использования маркерных систем для картирования и характеристики генов и QTL, определяющих устойчивость к основным заболеваниям, и их целенаправленному использованию в селекции зерновых культур на устойчивость к биотическим факторам среды.

Фузариоз колоса. Фузариоз колоса (FHB, *Fusarium Head Blight*) является губительным заболеванием во всех основных странах выращивания пшеницы, обуславливающим значительные потери урожая, качества зерна и загрязнение ядовитыми микотоксинами. В Центральной Европе болезнь вызвана комплексом *Fusarium graminearum* (synonym: *Gibberella zeae* (Schwein.) Petch), *F. culmorum* (Wm. G. Sm.)

Сасс. и некоторыми менее важными видами рода *Fusarium*. Основным методом борьбы с FHB является селекция устойчивых сортов.

В нашей работе (Miedaner et al., 2006) для изучения генетики устойчивости была создана специальная генетическая платформа путём интрогрессии двух QTL, определяющих устойчивость к FHB, из линии CM82036 (Sumai 3 / Thornbird) и одного QTL из сорта Frontana в элитные европейские сорта яровой пшеницы. Изучен эффект этих трёх QTL на устойчивость к фузариозу колоса в различных комбинациях QTL.

A. DON content



B. Heading-adjusted FHB rating

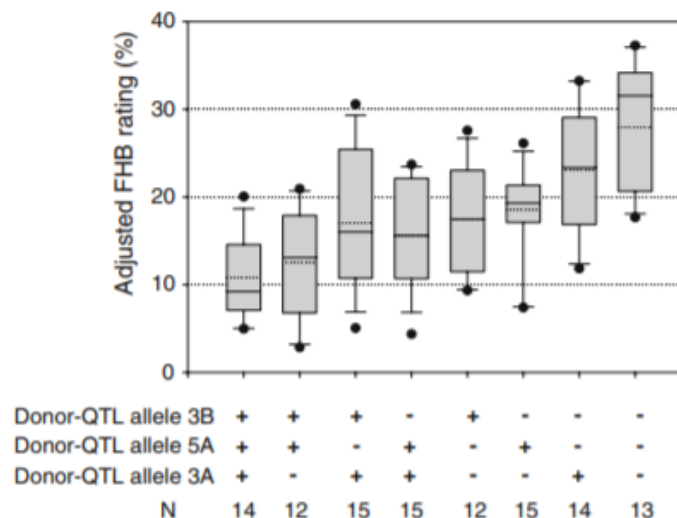


Рисунок 3. Бокс-плот распределения $F_{3:5}$ материала, содержащего альтернативные аллели (+, - присутствие или отсутствие QTL от донора) в QTLs-районах на хромосомах 3В, 3А и 5А для: А) содержания DON, В) поражения колоса FHB после искусственного заражения *Fusarium culmorum*. (Miedaner et al., 2006).

Каждый из классов QTL был представлен 12-15 растениями $F_{3:5}$, содержащими соответствующие молекулярные маркеры в гомозиготном

состоянии. Один класс без аллелей устойчивости к фузариозу колоса служил в качестве контроля. Содержание микотоксина DON и поражение колоса были оценены нами в ходе полевого эксперимента в четырёх экологических точках при искусственном заражении *Fusarium culmorum*. Все три индивидуальных QTL оказали существенное влияние на содержание DON и степень поражения FHB по сравнению с классом QTL без аллелей устойчивости (рис. 3). Наибольший положительный эффект, снижающий содержание DON и поражение FHB, оказали совмещённые 3В и 5А QTL. 3А QTL от сорта Frontana не улучшал оба признака в сочетании с другими QTL.

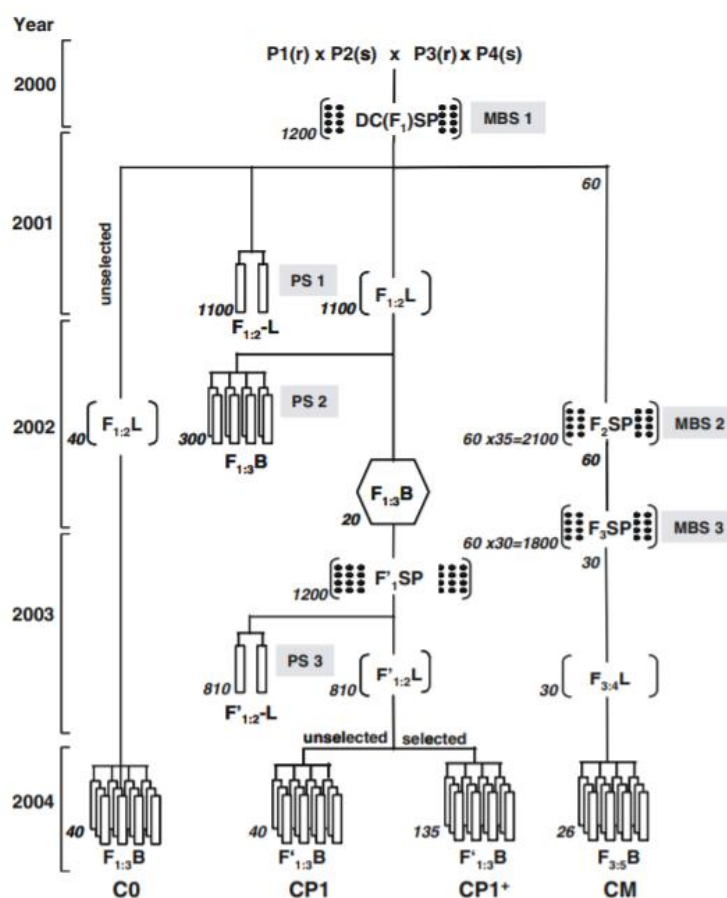


Рисунок 4. Экспериментальный дизайн для сравнения фенотипической и маркер-поддерживающей селекции на устойчивость к фузариозу колоса (FHB) в потомстве яровой пшеницы от двойного скрещивания двух устойчивых и двух чувствительных к фузариозу колоса родителей. Каждая цифра обозначает количество растений из потомства в каждом поколении. C0, CP1, CP1* и CM указывают на исходную популяцию (C0), фенотипически отобранную в два цикла (CP1) или в три цикла селекции (CP1*) и отобранную с помощью молекулярных маркеров (CM), соответственно (Wilde et al., 2007).

Дальнейшее исследование было посвящено сравнению фенотипического и маркерного отбора на яровой пшенице (Wilde et al., 2007). Сорт Sumai 3 из Китая и его потомки, а также Frontana из Бразилии были выявлены и картированы с помощью молекулярных маркеров, как важные источники устойчивости к фузариозу колоса на пшенице. В двойном скрещивании (рис. 4) были объединены две донорных QTL аллели из CM82036 (Sumai 3 / Thornbird), расположенные на хромосомах 3В и 5А, и одна донорная аллель из сорта Frontana на хромосоме 3А с двумя высокоурожайными немецкими сортами яровой пшеницы. Эта начальная популяция была разделена фенотипически с использованием двух- (CP1 популяция) или трёхступенчатой процедуры (CP1+) или независимой маркерной селекции, основанной на двух-трёх фланговых маркерах для каждого QTL (CM-популяция). Для оценки эффективности отбора два фенотипически отобранных варианта и маркерный вариант были испытаны вместе с исходным вариантом (C0-популяция – без отбора) на четырех участках в 2004 г. В каждом варианте от 26 до 135 растений были протестированы на содержание DON и оценены по устойчивости к фузариозу колоса с учётом сроков колошения и высоты растений.

Степень поражения фузариозом и содержание DON были значительно уменьшены всеми вариантами отбора (рис. 5). Самый высокий результат селекции был получен при использовании трёхступенчатого ежегодного фенотипического отбора для обоих признаков, однако отбор на основе маркеров оказался более эффективным.

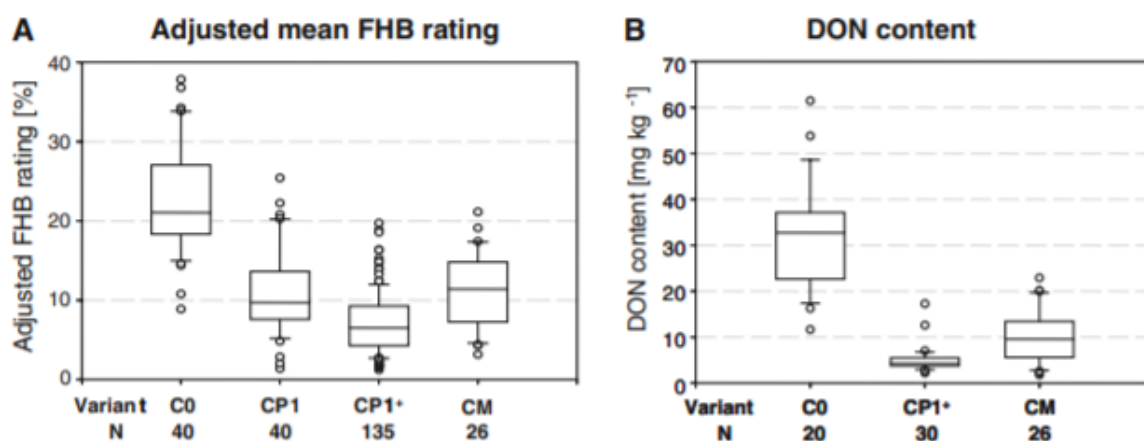


Рисунок 5. Бокс-плот распределения неселектированной популяции (C0), фенотипически (CP1 и CP1*) и с помощью маркеров (CM) отобранного материала для **A)** поражения колоса FHB, **B)** содержания DON после искусственного заражения *Fusarium culmorum* (Wilde et al., 2007).

Оригинальные результаты по молекулярно-генетическому картированию получены в работе Kollers et al., 2013, где нами были оценены в общей сложности 358 современных европейских сортов озимой пшеницы и 14 яровых сортов пшеницы на устойчивость к фузариозу колоса (FHB), вызванному *Fusarium graminearum* и *Fusarium culmorum*, на четырёх отдельных экспериментальных участках. Оценки FHB, основанные на частоте FHB (устойчивость типа I) и величине поражения колоса (устойчивость типа II), показали широкое фенотипическое различие между сортами со значениями лучшего линейного неискаженного прогноза (best linear unbiased prediction (BLUP)) в диапазоне от 0,96 до 35,9. Генотипирование с 732 SSR-маркерами позволило разместить 620 маркеров на ITMI-карте пшеницы. Полученная средняя плотность маркера 6,8 сМ позволила использовать ассоциированное геномное картирование (GWAS) с помощью смешанной модели. В общей сложности нами было обнаружено 114 значимых (LOD – 3.0) ассоциаций между SSR-локусами и признаками для 78 SSR-маркеров. Очень стабильные ассоциации, обнаруженные на трёх или более участках испытаний, включали хромосомы 1A, 3A, 5D с эффектом снижения устойчивости и 1B, 5D и 7A с эффектом повышения устойчивости к фузариозу колоса. Зависимость количества благоприятных аллелей в пределах различных показателей FHB указывает на аддитивный эффект этих аллелей. Оценка маркеров, характерных для гена короткостебельности *Rht1-D1* и гена чувствительности к фотопериоду *Ppd-D1*, выявила сильное воздействие обоих генов на устойчивость к FHB (рис. 6). Полученные результаты явились необходимым условием для разработки стратегий селекции по устойчивости к фузариозу колоса у пшеницы.

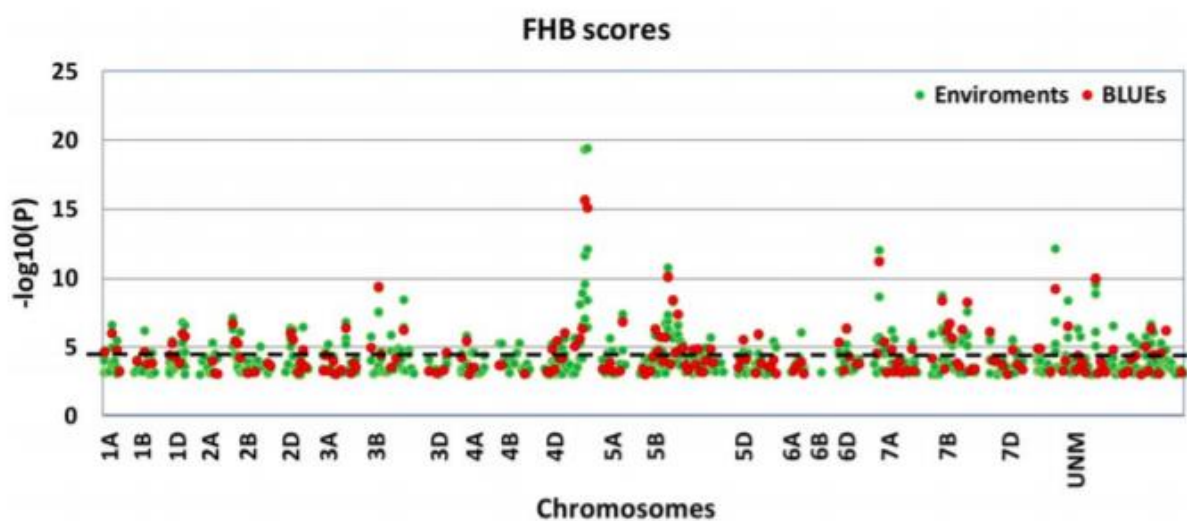


Рисунок 6. Манхеттен плот для маркеров, ассоциированных с устойчивостью к фузариозу колоса (Kollers et al., 2013).

Септориоз. Септориоз *Septoria tritici blotch* (STB), вызываемый *Mycosphaerella graminicola* (anamorph *Septoria tritici* (Fuckel) J. Schröt), является одним из наиболее серьезных заболеваний озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) в Европе и в других районах выращивания пшеницы по всему миру. Фунгициды на основе стробилурина или хинон ингибиторы (QoIs) были успешно использованы для контроля септориоза, но природные QoIs - устойчивые варианты, вызванные точечной мутацией в аллеле, контролирующем цитохром b у *M. graminicola*, привели к неэффективности использования данных фунгицидов (Fraaije et al., 2005). Поэтому селекция генетически устойчивых сортов по-прежнему является одной из основных задач в борьбе с этим серьезным заболеванием. Проведено геномное ассоциативное картирование (GWAS) для 358 европейских сортов озимой пшеницы и 14 сортов яровой пшеницы с целью оценки генетической архитектуры устойчивости к STB в спектре сортов (Kollers et al., 2012.).

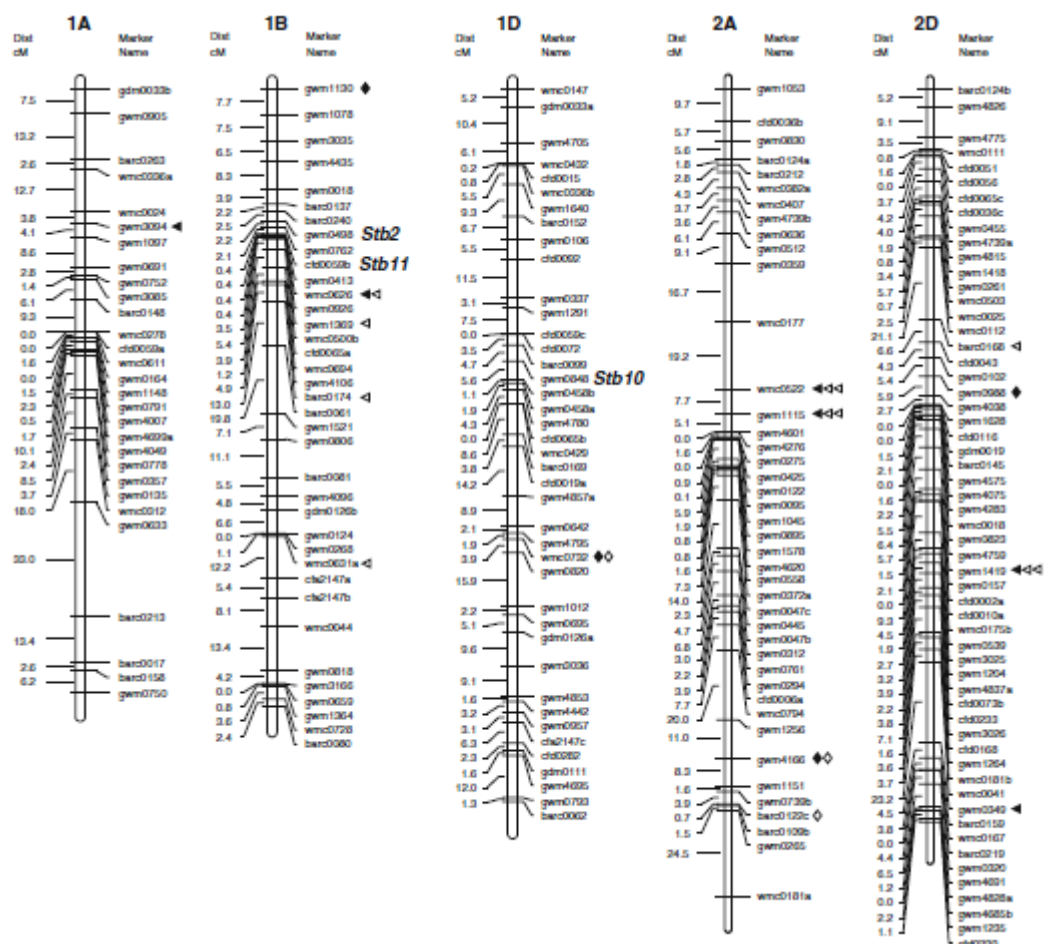


Рисунок 7. Хромосомная локализация достоверных ассоциаций маркер - устойчивость к септориозу. Указано положение известных генов устойчивости *Stb* к септориозу пшеницы на хромосомах 1A-2D. (Kollers et al., 2012).

Нами было выявлено 115 ассоциаций маркер-признак устойчивости (MTA = marker trait association), связанных с 68 молекулярными маркерами. Установлена достоверная корреляция между генами короткостебельности *Rht-D1* и чувствительности к длине светового дня *Ppd-D1* с устойчивостью к септориозу. Генетическое расположение отдельных MTA совпадало с генетическим расположением уже известных генов устойчивости к септориозу, таких как *Stb1*, 3, 4, 6 и 8, в то время как многочисленные дополнительные MTA были найдены на хромосомах 2A, 2D, 3A, 5B, 7A и 7D (рис. 7). Полученные нами результаты подтвердили возможность успешного использования GWAS и указали на наличие генов устойчивости к септориозу в генофонде европейской озимой пшеницы.

Стеблевая и бурая ржавчина. Стеблевую ржавчину ржи (*Puccinia graminis* f. sp. *secalis* Erikss. & Henning) можно найти во всех европейских регионах выращивания ржи. Когда лето теплое и сухое, болезнь может привести к серьёзным потерям урожая на больших площадях. В Европе до сих пор проводилось мало исследований для активного ведения селекции на устойчивость к этому заболеванию. Мы исследовали три популяции, полученные от скрещивания двух инбредных линий, и одну популяцию, полученную от скрещивания инбредной линии с тестерной формой, для картирования устойчивости к стеблевой ржавчине ржи (Gruner et al., 2020). В течение двух лет было протестировано 68-70 генотипов в каждой популяции, при этом каждый генотип испытывали на трёх различных участках. Объединив фенотипические данные с данными по генотипированию с использованием SNP-чипа, мы выявили как количественно наследуемую устойчивость у взрослых растений, так и моногенную устойчивость на всех стадиях онтогенеза. Один ген устойчивости *Sr3*, расположенный на длинном плече хромосомы 7R, был определён в двух независимо полученных генетических популяциях (рис. 8).

Ген *Sr3* с высокой вероятностью тесно связан с нуклеотид-связывающим лейцин-богатым повтором гомолога гена устойчивости (NB-LRR). В ходе исследований создан SNP-маркер для конкурентного аллель-специфического анализа генотипирования с помощью полимеразной цепной реакции (KASP). Этот маркер может объяснить 73 и 97% генетической дисперсии в каждой из обеих популяций соответственно и является диагностическим для гена *Sr3*. Ген *Sr3* и дополнительно выявленные локусы количественных признаков (QTL) имеют высокий потенциал для их использования в селекции на устойчивость к стеблевой ржавчине у ржи.

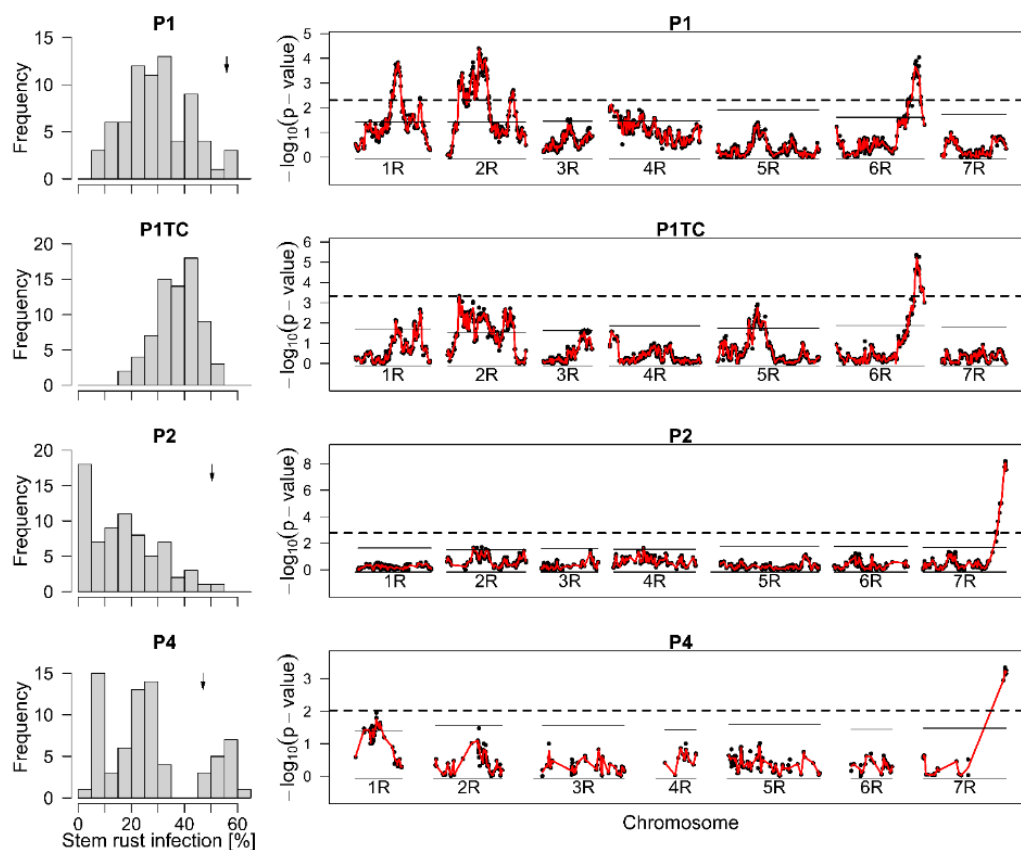


Рисунок 8. Распределение фенотипов после заражения возбудителем стеблевой ржавчины и LOD-значения для QTL-картирования. Гистограммы отображают лучшие линейные несмещённые предикторы (BLUE) популяций линий P1, P2, P4 и P1TC, соответствующего тесткрасса P1. Расчёт построенных BLUE на графике был основан на модели (2) без использования данных маркеров. BLUE восприимчивых родителей обозначаются маленькой стрелкой. P-значения для одномаркерного тестирования вдоль семи хромосом от 1R до 7R нанесены как р-значения получены из модели (3). (Gruner et al., 2020).

Кроме вышеуказанных заболеваний, в этой главе представлены результаты использования маркерных систем для картирования и идентификации генов и QTL, определяющих устойчивость к церкоспореллёзу пшеницы (возбудители *Oculimacula acuformis* (Boerema, R. Pieters & Hamers) Crous & W. Gams (syn. *Tapesia acuformis* Boerema, R. Pieters & Hamers 1992, anamorph: *Helgardia acuformis* (Nirenberg) Crous & W. Gams, syn. *Pseudocercospora herpotrichoides* var. *acuformis* (Fron) Deighton 1973) и *O. yallundae* Wallwork & Spooner) Crous & W. Gams, 2003, (syn. *T. yallundae* Wallwork & Spooner, anamorph: *H. yallunda* syn. var. *herpotrichoides*) (Fron) Crous & W. Gams, мучнистой росы (возбудитель *Blumeria graminis* f.sp. *hordei* (Bgh)) у ячменя, устойчивости к вирусным заболеваниям (возбудители *SBCMV* и *WSSMV* у ржи и пшеницы и пиренофороза у пшеницы (возбудитель *Pyrenophora tritici-repentis* (Died) Drechs).

3.3 Генетические исследования злаков, направленные на увеличение адаптивной селекции

В этой главе представлены результаты использования маркерных систем для картирования и характеристики генов и QTL, определяющих устойчивость к основным видам абиотического стресса, таким как низкотемпературный стресс (зимостойкость), засуха и осмотический стресс, и их целенаправленному использованию в селекции зерновых культур.

Низкотемпературный стресс. По сравнению с другими зерновыми злаками, такими как пшеница и ячмень, рожь наиболее устойчива к низким температурам (Fowler and Limin, 1987) и поэтому представляет идеальную модель для исследования генетической архитектуры зимостойкости зерновых. Из-за высокой степени устойчивости к абиотическому стрессу рожь является ценной культурой в тех регионах возделывания, где выращивание большинства других зерновых культур нерентабельно (Miedaner, 2013).

На первом этапе нашего исследования, используя фенотипические данные, полученные в полевых испытаниях и при промораживании в контролируемых условиях, были определены участки генома, контролирующие устойчивость к низким температурам у озимой ржи (Erath et al., 2017). На основе этих результатов дальнейшими целями нашего исследования было: (1) определить количество, местоположение и структуру геномных районов, контролирующих устойчивость к низким температурам в F₂-популяции озимой ржи с помощью анализа QTL, (2) обосновать оптимальную стратегию отбора в отношении платформы фенотипических оценок, растительного материала и модели отбора с учётом генетической архитектуры устойчивости к низким температурам, и (3) оценить структуру популяции европейского селекционного материала и генетических ресурсов по локусам *FrR2* и *Fr 1* для оценки их потенциала для QTL устойчивости к низким температурам. Линии и потомства от скрещивания фенотипически оценивали по комплексу признаков – развитие после перезимовки (DAW), сохранность после перезимовки (SAW), отрастание после промораживания (REC) в контролируемых условиях замораживания и в многолокационных полевых испытаниях в России (Липецк, Казань) и в Канаде. Три QTL были обнаружены на хромосомах 4R, 5R и 7R в разных экспериментах (рис. 9).

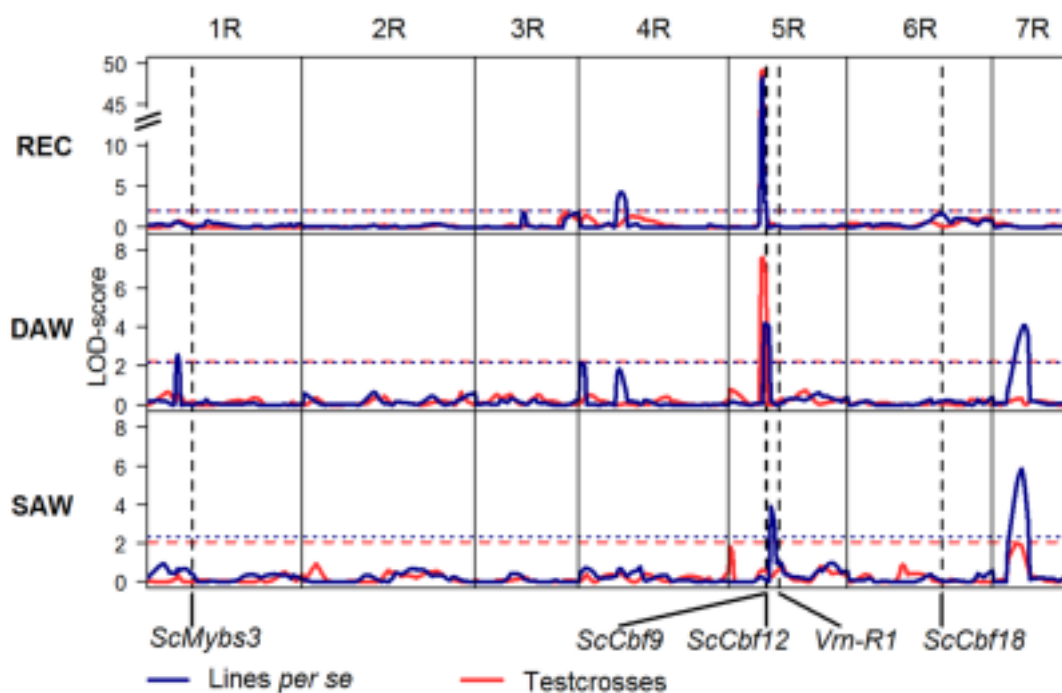


Рисунок 9. QTL-анализ популяции F_2 Lo157xPuma. LOD-значения показаны для объединённого анализа во всех экспериментах для всех семи хромосом (1R-7R) ржи. Отрастание после промораживания (REC), развитие после перезимовки (DAW) и сохранность после перезимовки (SAW) указано для линий (синим цветом) и для их скрещиваний (красным цветом) (Erath et al., 2017).

Устойчивость к абиотическому стрессу у пшеницы имеет решающее значение для повышения стабильности урожайности, но её генетическая основа все ещё плохо изучена. Чтобы расширить представление о генетической архитектуре устойчивости к низким температурам, было проведено масштабное молекулярно-генетическое изучение большой популяции картирования, содержащей 1739 линий и гибридов пшеницы (*Triticum aestivum* L.), адаптированных к условиям Центральной Европы в полевых испытаниях, проведенных в Германии (Zhao et al., 2013). Весь материал был генотипирован с помощью 9k SNP-чипа для мягкой пшеницы. Мы установили, что аддитивные эффекты морозоустойчивости преобладают над эффектами доминирования. Двухмерное сканирование генома выявило также наличие эпистатических эффектов (рис. 10). При использовании полногеномной ассоциации в сочетании с надёжной стратегией перекрёстной проверки был определен один локус устойчивости к низким температурам с основным эффектом, расположенный на хромосоме 5В. Этот локус не был в генетическом сцеплении с известными локусами устойчивости к заморозкам *Fr-B1* и *Fr-B2*.

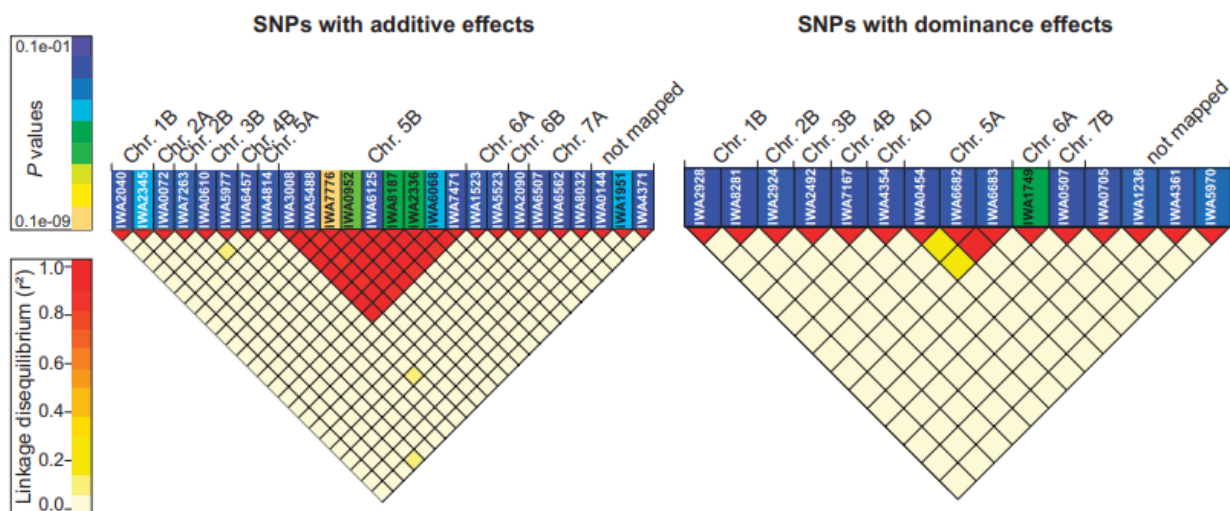


Рисунок 10. Тепловой плот демонстрирует P -значения SNP-маркеров, имеющих достоверный эффект на аддитивное и доминантное проявление признака зимостойкости. Неравновесное состояние сцепления между маркерами измеряется квадратом коэффициента корреляции Пирсона (r^2) (Zhao et al., 2013).

Применение методов геномной селекции, которые учитывают также локусы с небольшими эффектами, позволило значительно улучшить прогнозирование генетической вариации морозоустойчивости у пшеницы. Разработанная нами модель прогнозирования представляет большую ценность для селекции на устойчивость к заморозкам, потому что этот признак варьирует в значительных пределах по годам и, следовательно, является трудной целью для обычного фенотипического отбора в селекции зерновых культур.

3.4 Генетическое картирование признаков продуктивности и качества зерновых культур

Урожайность зерна является наиболее важной экономической характеристикой ржи, другими ценными признаками являются устойчивость к полеганию, высота растений, масса 1000 зёрен, а также число падения, как косвенный признак устойчивости к предуборочному прорастанию. Для повышения хлебопекарных качеств важную роль играет высокий уровень содержания пентозанов и крахмала при среднем содержании белка. Для целей кормления животных содержание белка должно быть как можно более высоким, а пентозанов – как можно более низким. Для производства этанола содержание крахмала имеет решающее значение. Если для вышеуказанных признаков может быть обнаружено небольшое количество надёжных QTL с высокими эффектами, это позволит селекционеру легче удовлетворять противоречивые требования производства. В настоящий момент имеется мало информации о количественных локусах, лежащих в основе важных

агрономических признаков ржи. Мы провели анализ генома по QTL, связанным с урожайностью и качеством зерна признаков (урожай зерна, высота растения, масса 1000 зёрен, масса зерна с колоса, натура зерна, число падения, содержание общих и растворимых пентозанов, содержание крахмала и белка) у двух расщепляющихся популяций ржи (рис. 11) (Miedaner et al., 2012).

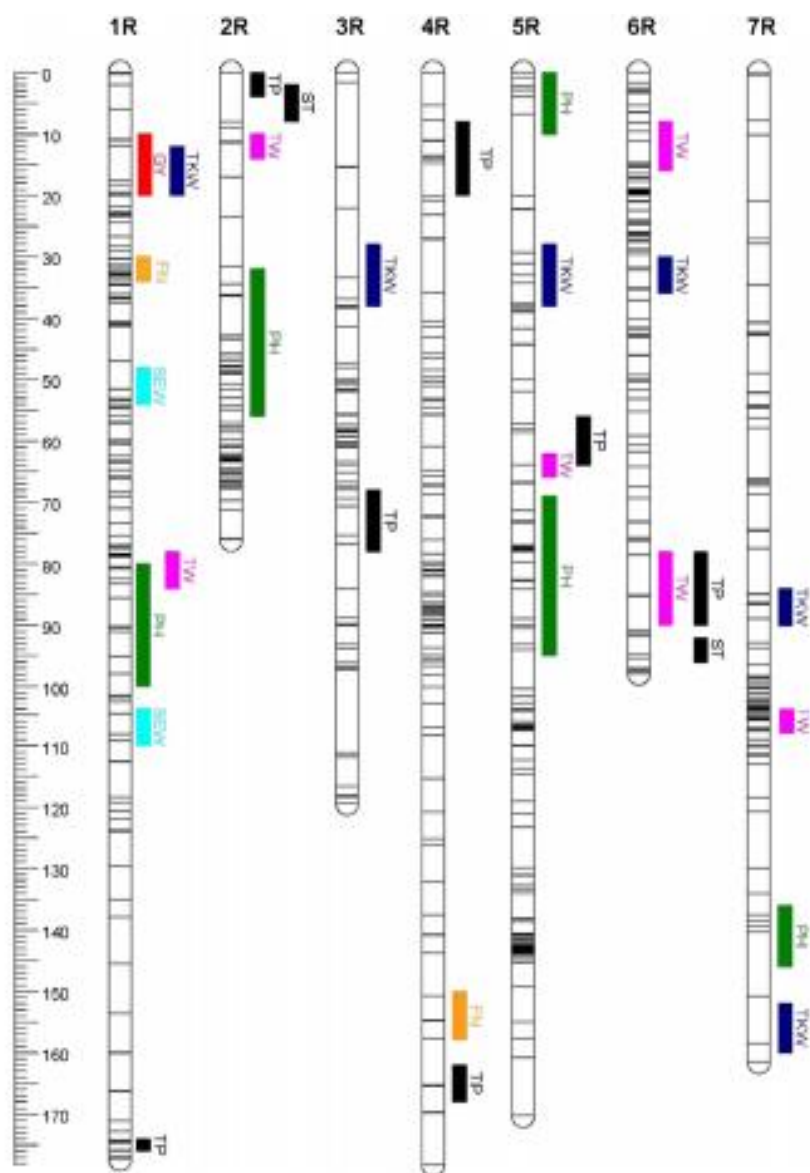


Рисунок 11. Генетическая карта популяции А и обнаруженные локусы количественных признаков (QTL). Отдельные локусы обозначены горизонтальными линиями вместе с 31 QTL на 7 хромосомах ржи (1R-7R). Поддерживающий интервал для QTL указан вертикальными прямоугольниками, GY= урожай, PH = высота растений, TKW = масса 1000 зерен, SEW = масса зерна с колоса, TW = натура зерна, FN = число падения, TP = содержание общих пентозанов, ST = содержание крахмала (Miedaner et al., 2012).

Всего проанализировано 440 линий из двух популяций (Pop-A, Pop-B). Были определены QTL, ответственные за проявление каждого из десяти показателей, и оценена их воспроизводимость в десяти различных климатических точках в Центральной и Восточной Европе (комбинации местоположения и года). Потомки и их родители были генотипированы маркерами DArT, SSR и SNP и оценены путём тест-кросса на их комбинационную способность для всех изучаемых агрономических признаков. В наших исследованиях количество обнаруженных QTL варьировало от нуля до девяти на признак (рис. 11). В большинстве случаев взаимодействие среды и QTL было значительным ($P \leq 0.01$), но дисперсия основного эффекта QTL была более заметной. QTL для урожайности зерна, как и предполагалось, в основном показали небольшие эффекты. В отличие от этого, компоненты урожайности, такие как масса 1000 зёрен и натура зерна, находились под влиянием нескольких основных QTL с высокой частотой, возникающих в повторных экспериментах. Эти QTL объясняли большую часть генотипической дисперсии, благодаря чему могут быть использованы в селекционных программах с применением молекулярно-генетических маркеров. Они представляют собой первый шаг к клонированию основных генов на основе молекулярно-генетических карт.

В селекции гибридной ржи геномная селекция на основе прогнозирования, как ожидается, имеет высокий потенциал из-за длительных циклов отбора в возвратных популяциях и получения гибридных компонентов. Возникают два сценария прогнозирования: а) прогнозирование генетической ценности растений из того же цикла размножения, в котором осуществляется разработка модели, и б) прогнозирование растений из последующих циклов. Именно в этих вариантах ожидается самое сильное влияние на эффективность селекции с использованием геномного прогноза (GS) в связи с потенциальным сокращением продолжительности цикла. Мы эмпирически исследовали геномное предсказание урожайности зерна, высоты растений и массы тысячи зёрен в четырёх циклах отбора программы селекции гибридной ржи (Aunger et al., 2016). Качество прогнозирования оценивали с использованием геномного анализа и родословной на основе наилучшего линейного прогноза (GBLUP и PBLUP). В общей сложности 1040 линий S_2 были генотипированы с использованием SNP-чипа и топкроссы 260 линий S_2 были оценены по фенотипу в семи или восьми местах. Точности прогнозирования, полученные в ходе перекрестной проверки, были порядка 0,70 для всех признаков в случае, когда данные из всех циклов использовались для получения модели и превышали предсказуемость классической селекции в пределах точности цикла во всех случаях (рис. 12).

До тех пор, пока циклы отбора соединены достаточным числом общих родителей и точность прогнозирования не достигла плато в отношении увеличения размера выборки, нами рекомендуется объединение данных из нескольких предыдущих циклов для прогнозирования генетических значений в последующих циклах, несмотря на уменьшение родственности с течением времени.

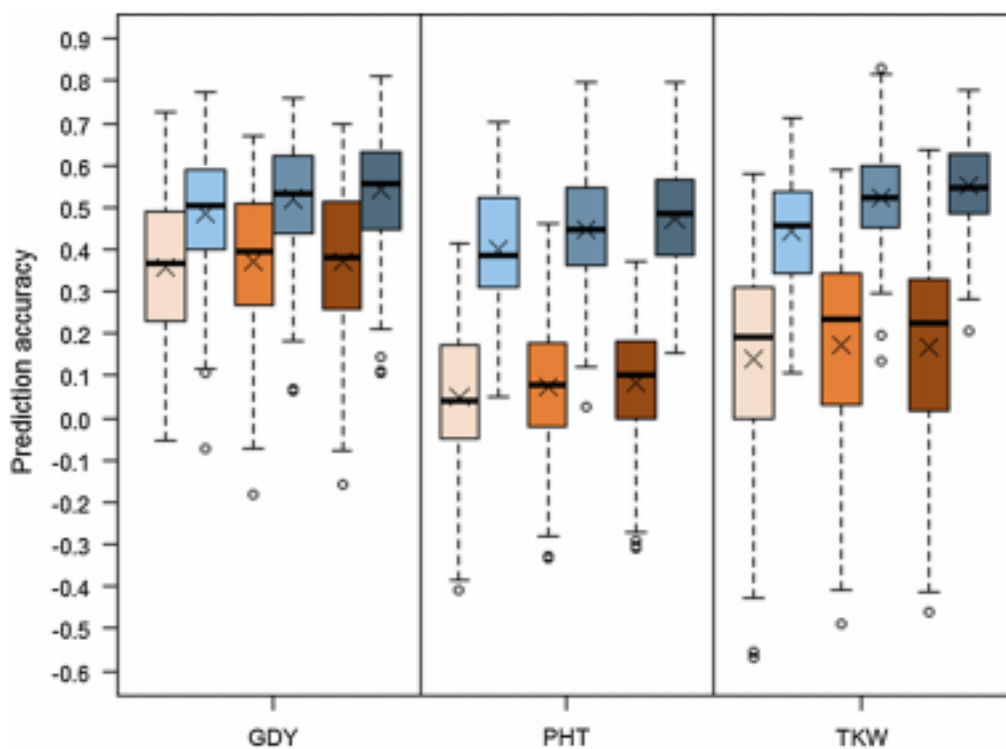


Рисунок 12. Прогноз точности отбора в пределах цикла (CV1) в четырёх циклах селекции для урожая сухого зерна (GDY), высоты растений (PHT) и массы 1000 зёрен (TKW), полученный с помощью PBLUP (слева) и GBLUP (справа). Бокс-плоты показывают медиану (горизонтальная линия), среднее значение (x), верхний и нижний квартиль, перекрёстная проверка со случайной выборкой и постоянной калибровкой (N = 208) и размер комплекта проверки (N = 52) (Aunger et al., 2016).

Геномный отбор применяется к различным видам растений, в основном для урожайности или признакам, связанным с урожайностью, таких как урожайность сухого вещества зерна или массы тысячи зерен, и улучшение устойчивости к болезням. Признаки качества не были основной областью анализа для геномного отбора, а проводились в основном с помощью маркерной селекции. В нашем исследовании (Schmidt et al., 2016) нами была оценена возможность применения геномного отбора к двенадцати признакам качества солода в двух коммерческих программах селекции ярового и озимого ячменя (*Hordeum*

vulgare L.). Фенотипические показатели были рассчитаны, используя многолокационные полевые данные испытаний от трёх или четырёх лет, в зависимости от исследуемого признака. Показатели наследственности для признаков солода колебались между 0.50 и 0.98. Прогностические способности, полученные в результате перекрёстной проверки, варьировались от 0,14 до 0,58 для ярового ячменя и от 0,40 до 0,80 для озимого ячменя.

Использование геномного отбора при селекции пивоваренного ячменя явно имеет потенциал для снижения затрат на фенотипирование признаков качества, увеличение интенсивности отбора и сокращение циклов размножения.

3.5 Система восстановления фертильности (*Rfp* гены) ржи

Рожь (*Secale cereale* L.) является единственным видом из перекрёстноопыляющихся зерновых культур, традиционно используемых в виде популяционных сортов. Вместе с тем, в течение последних четырёх десятилетий были созданы высокоэффективные программы гибридной селекции этой культуры. Данные программы основаны в основном на использовании цитоплазмы 'Рапра' (P), как генетического механизма контроля оплодотворения при производстве гибридных семян и высокого уровня гетерозиса, который можно наблюдать у гибридного потомства родительских инбредных линий, полученных из генетически удалённых популяций. Использование маркерных систем для картирования и характеристики генов, контролирующих восстановление фертильности пыльцы у ржи, и их целенаправленное использование в селекции этой культуры, позволило решить целый ряд научных и практических задач селекции. Нами найдены маркеры, которые тесно связаны с геном восстановления фертильности пыльцы *Rfp1* у ржи (Korzun, 2002). Разработаны маркерные системы для маркер-поддерживающей селекции на основе ПЦР, которые нашли дальнейшее широкое использование в научных исследованиях и особенно в селекционном процессе для создания нового, улучшенного генетического материала гибридной ржи путём значительного уменьшения поражения колоса спорыньёй (*Claviceps purpurea* [Fr.] Tul.), уменьшения риска токсичности и повышения стабильности урожая озимой ржи. Детальное картирование позволило нам определить гены-кандидаты для *Rfp1* у ржи.

Созданные на основе целенаправленного использования генетических ресурсов и маркерной селекции новые высокоурожайные гибриды ржи (PollenPlus®) являются одними из лучших мировых примеров применения маркерных технологий в создании высококачественных сельскохозяйственных продуктов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Созданы технологии генетического маркирования и сконструированы первые-молекулярно-генетические карты основных зерновых культур, ставшие основой для интенсивного развития работ направленных на установление ассоциаций «генотип – фенотип», установления структурной организации геномов и структурно-функциональной организации генов, а также на решение задач практической селекции зерновых культур.

Впервые создана генетическая карта мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) с использованием SSR-маркеров. Эта научная работа явилась основой для молекулярно-генетического картирования у пшеницы и имеет более 2200 научных цитирований.

Впервые создана молекулярно-генетическая карта генома ржи, основанная на RFLP-маркерах и ставшая наиболее насыщенной молекулярно-генетической картой генома этой культуры на момент её публикации. Эта карта была дополнена впоследствии изозимными, SSR-маркерами и генными последовательностями и стала основой для многих последующих работ по картированию генов и QTL, контролирующих агрономические признаки у ржи.

Разработанные технологии и молекулярно-генетические маркеры были эффективно использованы для решения широкого спектра задач в области генетики и селекции основных зерновых культур, включающих:

а) характеристику генетических ресурсов пшеницы и ржи. Продемонстрирована высокая эффективность использования разработанных маркеров и маркерных систем для определения различий в образцах диплоидных видов пшеницы и диких сородичей пшеницы, для таксономических и эволюционных исследований и изучения генетического разнообразия у ржи. Впервые молекулярные маркеры были использованы для расширения генетической базы гетеротических популяций, что является ключом к обеспечению дальнейшего генетического прироста в гибридной селекции и распространению гибридных сортов в новые районы возделывания.

б) характеристику цитогенетического материала мягкой пшеницы. Успешно продемонстрирована возможность использования SSR-маркеров для идентификации хромосомно-замещённых линий пшеницы.

в) установление генетических маркеров для важных агрономических признаков, генов и QTL. Продемонстрирована эффективность созданных молекулярно-генетических технологий и маркерных систем для выявления механизмов устойчивости зерновых культур к биотическим и абиотическим факторам среды; выявлено, что маркеры, расположенные на генах *Dicer1* и *Ara6* пшеницы (*Triticum aestivum* L.), связаны с признаком устойчивости к фузариозу колоса; выявлены локусы, контролирующие устойчивость к септориозу у европейской озимой пшеницы, показано, что

каждый локус имеет небольшую, вместе с тем, значимую аддитивную величину эффекта; показано, что ген *Sr3* и дополнительно выявленные количественные локусы признаков (QTL) имеют высокий потенциал для использования в селекции на устойчивость к стеблевой ржавчине у ржи; найдены маркер-устойчивость ассоциации к церкоспореллезной гнили на хромосомах пшеницы 1D, 2A, 2D, 3D, 5A, 5D, 6A, 7A и 7D для SSR-маркеров и хромосомах 1B, 2A, 2B, 2D, 3B и 7D для SNP-маркеров; идентифицировано 11 генов ячменя, связанных с расонеспецифической устойчивостью к мучнистой росе в присутствии гена *Mlo*, показана особая важность гена, кодирующего транскрипционный фактор *WRKY2*; на хромосоме 5R ржи выявлен QTL, обеспечивающий в одной из популяций 31,9 % фенотипической вариации устойчивости к *SBCMV*, на хромосоме 7R обнаружен один QTL, объясняющий до 64,0% фенотипической вариации для устойчивости к *WSSMV* в каждой из трёх изученных популяций ржи; выявлен и идентифицирован новый локус, определяющий устойчивость к заморозкам с основным эффектом у пшеницы, расположенный на хромосоме 5B.

г) разработку маркеров аллельной вариации отдельных генов и их связи с важными сельскохозяйственными признаками у зерновых культур. Впервые с использованием тесно сцепленного молекулярного маркера WMS261 была изучена родословная сортов пшеницы и показано происхождение гена *Rht8* из японского сорта пшеницы *Akokomugi* и распространение аллельных вариантов в сортах из Южной Европы и мексиканских CIMMYT сортов мягкой пшеницы. Данная информация и молекулярный маркер нашли широкое применение в дальнейших научных исследованиях и практической селекции мягкой пшеницы во всём мире.

Впервые проведена расшифровка генома ржи (*Secale cereale* L.), на основе которого создан первый масштабный SNP-чип для этой культуры, содержащий более 600 тыс. маркеров. Это способствовало эффективному внедрению геномной селекции в селекцию гибридной ржи и, в итоге, созданию высокоурожайных, адаптированных к условиям среды гибридов ржи.

Впервые реализован инновационный подход по картированию генов *Rfp1* и *Rfp3* (восстановление фертильности пыльцы) у гибридов озимой ржи. Маркеры, связанные с геном восстановления фертильности пыльцы *Rfp1* у ржи, и разработанные специфические анализы на основе ПЦР нашли дальнейшее широкое использование в научных исследованиях и в селекционном процессе для создания нового улучшенного генетического материала гибридной ржи путём значительного уменьшения поражения колоса спорыньёй (*Claviceps purpurea* [Fr.] Tul.), уменьшения риска токсичности и повышения стабильности урожая гибридов озимой ржи.

Полученные результаты и разработанные стратегии вместе с эффективным использованием уже имеющихся знаний в современной селекции зерновых культур позволят успешно реализовать важнейшие задачи по интенсификации сельского хозяйства в меняющихся условиях окружающей среды, для надёжного обеспечения продовольственной безопасности в отдельно взятой стране и мире в целом.

СПИСОК ОСНОВНЫХ ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

СТАТЬИ В НАУЧНЫХ ЖУРНАЛАХ

1. Plaschke J., **V. Korzun**, R.M.D Koebner, A. Börner / Mapping of the GA3-insensitive dwarfing gene *ct1* on chromosome 7R in rye // Plant Breed, 1995. – 114. – P. 113-116.
2. Bougri O.V., **V.N. Korzun**, and B. Grimm / Chromosomal assignment of genes encoding glutamil-tRNA reductase in barley, wheat and rye and their organization in the barley genome // Hereditas, 1996. – 124. – P. 1-6.
3. **Korzun V.**, G. Melz and A. Börner / RFLP mapping of the dwarfing (*Ddw1*) and hairy peduncle (*Hp*) genes on chromosome 5 of rye (*Secale cereale* L.) // Theor. Appl. Genet., 1996. – 92. – P. 1073-1077.
4. **Korzun V.**, H.-J. Balzer, A. Balzer, H. Böumlein and A. Börner / Chromosomal location of three wheat sequences with homology to pollen allergen encoding, DNA replication regulating, and DNA (cytosine-5)-methyltransferase genes in wheat and rye // Genome, 1996. – 39. – P. 1213-1215.
5. **Korzun V.**, J. Plaschke, A. Börner, R. M. D. Koebner / Differences in recombination frequency between male and female gametogenesis in rye (*Secale cereale* L.) // Plant Breed, 1996 – 15. – P.:422-424.
6. Ben Amer IM, **Korzun V**, Worland AJ, Börner A / Genetic mapping of QTL controlling tissue culture response on chromosome 2B of wheat (*Triticum aestivum* L.) in relation to major genes and RFLP markers // Theor. Appl. Genet., 1997. – 94. – P. 1047-1052.
7. Börner, A., M. Röder and **V. Korzun** / Comparative molecular mapping of GA insensitive *Rht* loci on chromosomes 4B and 4D of wheat (*Triticum aestivum* L.) // Theor. Appl. Genet., 1997. – 95. – P. 1133-1137.
8. **Korzun, V.**, A. Börner, A. J. Worland, C. N. Law and M. S. Röder / Application of microsatellite markers to distinguish inter-varietal chromosome substitution lines of wheat (*Triticum aestivum* L.) // Euphytica, 1997. – 95. – P. 149-155.
9. **Korzun, V.**, M. Röder, A. J. Worland and A. Börner / Intrachromosomal mapping of the dwarfing (*Rht12*) and vernalisation response (*Vrn1*) genes

- in wheat by using RFLP and microsatellite markers // Plant Breeding, 1997. – 116. – P. 227-232.
10. **Korzun, V.**, S. Malyshev, A. Voylokov and A. Börner / RFLP based mapping of the three mutant loci in rye (*Secale cereale* L.) and their relation to homoeologous loci within the Gramineae // Theor. Appl. Genet., 1997. – 95. – P. 468-473.
 11. Börner, A. and **V. Korzun** / A consensus linkage map of rye (*Secale cereale* L.) // Theor. Appl. Genet., 1998. – 97. – P. 1279-1288.
 12. Börner, A., **V. Korzun** and A. J. Worland / Comparative genetic mapping of loci affecting plant height and development in cereals // Euphytica, 1998. – 100. – P. 245-248.
 13. Börner, A., **V. Korzun**, A. Polley, S. Malyshev and G. Melz / Genetics and molecular mapping of a male fertility restoration locus (*Rfg1*) in rye (*Secale cereale* L.) // Theor. Appl. Genet., 1998. – 97. – P. 99-102.
 14. **Korzun V.**, S. Malyshev, N. Kartel, T. Westerman, W. E. Weber and A. Börner / A genetic linkage map of rye (*Secale cereale* L.) // Theor. Appl. Genet., 1998. – 96. – P. 203-208.
 15. **Korzun, V.**, M. S. Röder, M. W. Ganal, A. J. Worland, and C. N. Law / Genetic analysis of the dwarfing gene (*Rht8*) in wheat. Part I. Molecular mapping of the *Rht8* gene on the short arm of chromosome 2D of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) // Theor. Appl. Genet., 1998. – 96. – P. 1104-1109.
 16. Peil, A., **V. Korzun**, V. Schubert, E. Schumann, W. E. Weber and M. S. Röder / Application of wheat microsatellites to disomic *Triticum aestivum*-*Aegilops markgrafii* addition lines // Theor. Appl. Genet., 1998. – 96. – P. 138-146.
 17. Röder, M. S., **V. Korzun**, K. Wendehake, J. Plaschke, M.-H. Tixier, P. Leroy and M. W. Ganal / A microsatellite map of the wheat genome // Genetics, 1998. – 149. – P. 2007-2023.
 18. Röder, M.S., **V. Korzun**, B. S. Gill and M. W. Ganal / The physical mapping of microsatellite markers in wheat // Genome, 1998. – 41. – P. 278-283.
 19. Schlegel, R., G. Melz and **V. Korzun** / Genes, marker and linkage data of rye (*Secale cereale* L.) - an updated inventory // Euphytica, 1998. – 101. – P. 23-67.
 20. Worland, A. J., Börner, A., **Korzun, V.**, Li, W. M., Petrovic, S., and Sayers, E. J. / The influence of photoperiod genes on the adaptability of European winter wheats // Euphytica, 1998. – 100. – P. 385-394.
 21. Worland, A. J., **V. Korzun**, M. S. Röder, M. W. Ganal and C. N. Law / Genetic analysis of the dwarfing gene (*Rht8*) in wheat. Part II. The distribution and adaptive significance of allelic variants at the *Rht8* locus of wheat as revealed by microsatellite screening // Theor. Appl. Genet., 1998. – 96. – P. 1110-1120.

22. Börner, A., **Korzun V.**, Malyshev S., Ivandic V., Graner A. / Molecular mapping of two dwarfing genes differing in their GA response on chromosome 2H of barley // *Theor. Appl. Genet.*, 1999. – 99. – P. 670-675.
23. Börner, A., **V. Korzun**, A. Voylokov and W.E. Weber / Detection of quantitative trait loci on chromosome 5R of rye (*Secale cereale* L.) // *Theor. Appl. Genet.*, 1999. – 98. – P. 1087-1090.
24. Ivandic, V., S. Malyshev, **V. Korzun**, A. Graner and A. Börner / Comparative mapping of a gibberellic acid insensitive dwarfing gene (*Dwf2*) on chromosome 4HS in barley // *Theor. Appl. Genet.*, 1999. – 98. – P. 728-731.
25. **Korzun, V.**, A. Börner, R. Siebert, S. Malyshev, M. Hilpert, R. Kunze and H. Puchta / Chromosomal location and genetic mapping of the mismatch repair gene homologs *MSH2*, *MSH3* and *MSH6* in rye and wheat // *Genome*, 1999. – 42 (6). – P. 1255-1257.
26. **Korzun, V.**, M. S. Röder, K. Wendehake, A. Pasqualone, C. Lotti, M. W. Ganal and A. Blanco / Integration of dinucleotide microsatellites from hexaploid wheat into a genetic linkage map of durum wheat // *Theor. Appl. Genet.*, 1999. – 98. – P. 1202-1207.
27. Börner A., **V. Korzun**, A.V. Voylokov and W.E. Weber / Genetic mapping of quantitative trait loci in rye (*Secale cereale* L.) // *Euphytica*, 2000. – 116. – P. 203-209.
28. Börner, A., S. Chebotar and **V. Korzun** / Molecular characterisation of the genetic integrity of wheat (*Triticum aestivum* L.) germplasm after long term maintenance // *Theor. Appl. Genet.*, 2000. – 100. – P. 494-497.
29. Hammer, K., A.A. Filatenko and **V. Korzun** / Microsatellite markers – a new tool for distinguishing diploid wheat species // *Genetic Resources and Crop Evolution*, 2000. – 47. – P. 497-505.
30. Pestsova, E., E. Salina, A. Börner, **V. Korzun**, O.I. Maystrenko and M.S. Röder / Microsatellites confirm the authenticity of inter-varietal chromosome substitution lines in wheat // *Theor. Appl. Genet.*, 2000. – 101. – P. 95-99.
31. Pestsova, E., **V. Korzun**, N.P. Goncharov, K. Hammer, M.W. Ganal and M.S. Röder / Microsatellites analysis of *Aegilops tauschii* germplasm // *Theor. Appl. Genet.*, 2000. – 101. – P. 100-106.
32. Pickering R.A., S. Malyshev, G. Künzel, P.A. Johnston, **V. Korzun**, M. Menke, I. Schuber: Locating introgressions of *Hordeum bulbosum* chromatin within the *H. vulgare* genome // *Theor. Appl. Genet.*, 2000 – 100 – P. 27-31.
33. Salina E., A. Börner, I. Leonova, **V. Korzun**, L. Laikova, O. Maystrenko and M. Röder / Comparative microsatellite mapping of the induced sphaerococcoid mutation genes in *Triticum aestivum* // *Theor. Appl. Genet.*, 2000. – 100. – P. 686-689.

34. Huguet-Robert V., F. Dedryver, M.S. Röder, **V. Korzun**, P. Abelard, A.M. Tanguy, B. Jaudeau, J. Jahier / Isolation of a chromosomally engineered durum wheat line carrying the *Aegilops ventricose* *Pch1* gene for resistance to eyespot // Genome, 2001. – 44 – P. 345-349.
35. **Korzun, V.**, S. Malyshev, A.V. Voylokov and A. Börner / A genetic map of rye (*Secale cereale* L.) combining RFLP, isozyme, microsatellite and gene loci // Theor. Appl. Genet., 2001. – 102. – P. 709-717.
36. Malyshev S., **V. Korzun**, T.T. Efremova and A. Börner / Inheritance and molecular mapping of a gene determining vernalisation response in the Siberian spring rye variety 'Onokhoyskay' // Cereal Research Communication, 2001. – vol. 29 (3-4). – P. 259-265.
37. Worland, A. J., E. J. Sayers and **V. Korzun** / Allelic variation at the dwarfing gene Rht8 locus and its significance in international breeding programmes // Euphytica, 2001. - Volume 119. – Issue 1/2. – P.157-161.
38. Börner A., G. H. Buck-Sorlin, P. M. Hayes, S. Malyshev and **V. Korzun** / Molecular mapping of major genes and quantitative trait loci determining flowering time in response to photoperiod in barley // Plant Breeding, 2002. – 121. – P. 129-132.
39. Börner A., G. H. Buck-Sorlin, P. M. Hayes, S. Malyshev and **V. Korzun** / Molecular mapping of major genes and quantitative trait loci determining flowering time in response to photoperiod in barley // Plant Breeding, 2002. – 121. – P. 129-132.
40. Boyko, E., Kalendar R., **Korzun V.**, Fellers J., Korol A., Schulman A.H., Gill B.S. / A high-density cytogenetic map of the *Aegilops tauschii* genome incorporating retrotransposons and defense-related genes: insights into cereal chromosome structure and function // Plant Molecular Biology, 2002. – 48. – P. 767-790.
41. Chebotar S., M.S. Röder, **V. Korzun**, A. Börner / Genetic integrity of ex situ Genebank collections // Cell. Mol. Biol. Lett., 2002. – 7. – P. 437.
42. Gupta P.K., Balyan H.S., Edwards K.J., Isaac P., **Korzun V.**, Röder M.S., Gautier M.F., Joudrier P., Schlatter A.R., Dubcovsky J., De la Pena R.C., Khairallah M., Penner G., Hayden M.J., Sharp P., Keller B., Wang R.C.C., Hardouin J.P., Jack P., Leroy P. / Genetic mapping of 66 new microsatellite (SSR) loci in bread wheat // Theor Appl Genet., 2002. – 105. – P. 413-422.
43. **Korzun V.** / Use of molecular markers in cereal breeding // Cellular & Molecular Biology Letters, 2002. – 7. – P. 811-820.
44. Chebotar S.V., Röder M.S., **Korzun V.**, Saal B., Weber. W.E., and A. Börner / Molecular studies on genetic integrity of open-pollinating species rye (*Secale cereale* L.) after long-term genebank maintenance // Theor. Appl. Genet., 2003. – 107. – P.1469-1476.
45. Cooke R.J., G. Bredemeijer, M.W. Ganal, R. Peters, P. Isaac, S. Rendell, J. Jackson, M.S. Röder, **V. Korzun**, K. Wendehake, T. Areschenkova, M.

- Dijcks, D. Laborie, L. Bertrand, B. Vosman / Assessment of the uniformity of wheat and tomato varieties at DNA microsatellite loci // *Euphytica*, 2003. – 132. – P. 331-341.
46. Blanco A., R. Simeone, A. Cenci, A. Gadaleta, O.A. Tanzarella, E. Porceddu, S. Salvi, R. Tuberosa, G. Figliuolo, P. Spagnoletti, M.S. Röder, **V. Korzun** / Extention of the Messapia x *dicoccoides* linkage map of *Triticum turgidum* (L.) // *Cellular & Molecular Biology Letters*, 2004. - vol. 9. – P. 229-243.
 47. Blaszczyk I., J. Chelkowski, **V. Korzun**, J. Kraic, F. Ordon, J. Ovesna, L. Purnhauser, M. Tar, G. Vida / Verification of STS markers for leaf rust resistance genes of wheat by seven European laboratories // *Cellular & Molecular Biology Letters*, 2004. - Vol. 9. – P. 805-817.
 48. Khlestkina, E.K., M.H. Myint Than, E.G. Pestsova, M.S. Röder, S.V. Malyshev, **V. Korzun** and A. Börner / Mapping of 99 new microsatellite loci in rye (*Secale cereale* L.) including 35 expressed sequence tags // *Theor. Appl. Genet.*, 2004. – 109. – P. 725-732.
 49. Varshney R.K., R. Sigmund, A. Börner, **V. Korzun**, N. Stein, M. Sorrells, P. Langridge and A. Graner / Interspecific transferability and comparative mapping of barley EST-SSR markers in wheat, rye and rice // *Plant Science*, 2004. – 168. – P. 195-202.
 50. Ganeva G., **V. Korzun**, S. Landjeva, N. Tsenov, M. Atanasova / Identification, distribution and effects on agronomic traits of the semi-dwarfing *Rht* alleles in Bulgarian common wheat cultivars // *Euphytica*, 2005. – 145. – P. 305-315.
 51. Schmolke M., G. Zimmermann, H. Buerstmayer, G. Schweizer, T. Miedaner, **V. Korzun**, E. Ebmeyer, L. Hartl / Molecular mapping of Fusarium Head Blight resistance loci in the winter wheat population Drean/Lynx // *Theor. Appl. Genet.*, 2005. – 111. – P. 747-756.
 52. Miedaner T., P. Wilde, B. Steiner, H. Bürstmayr, **V. Korzun**, E. Ebmeyer / Stacking quantitative trait loci (QTL) for Fusarium head blight resistance from non-adapted sources into European elite spring wheat and estimating their effects on deoxynivalenol (DON) content and disease severity // *Theor. Appl. Genet.*, 2006. – 112. – P. 562-569.
 53. Landjeva S., **V. Korzun**, A. Börner / Molecular markers - actual and potential contributions to wheat genome characterization and breeding // *Euphytica*, 2007. – 156. – P. 271-296.
 54. Wilde F., **V. Korzun**, E. Ebmeyer, H.H. Geiger, T. Miedaner / Comparison of phenotypic and marker-based selection for Fusarium head blight resistance and DON content in spring wheat // *Molecular Breeding*, 2007. – 19. – P. 357-370.
 55. Holzapfel J., H.-H. Voss, T. Miedaner, **V. Korzun**, J. Häberle, G. Schweizer, V. Mohler G. Zimmermann and L. Hartl / Inheritance of

- resistance loci against fusarium head blight in three European winter wheat populations // *Theor. Appl. Genet.*, 2008. – 117. – P. 1119-1128.
56. Knopf C., H. Becker, E. Ebmeyer and **V. Korzun** / Occurrence of three dwarfing *Rht* genes in German winter wheat varieties // *Cereals Research Communication*, 2008. – 4. – P. 553-560.
 57. Landjeva S., **V. Korzun**, E. Stoimenova, B. Truberg, G. Ganeva and A. Börner / The contribution of the gibberellin-insensitive semi-dwarfing (*Rht*) genes to genetic variation in wheat seedling growth in response to osmotic stress // *Journal of Agricultural Science*, 2008. – 146. – P. 275-286.
 58. Schlegel R., **V. Korzun** / The 4BL-5RL wheat-rye translocation – another story of success in wheat breeding? // *Cereals Research Communication*, 2008. – 36. – P. 373-385.
 59. Voss, H.-H., J. Holzapfel, L. Hartl, **V. Korzun**, F. Rabenstein, E. Ebmeyer, H. Coester, H. Kempf and T. Miedaner / Effect of the *Rht-D1* dwarfing locus on Fusarium head blight rating, deoxynivalenol content and fungal biomass in three segregating populations of winter wheat // *Plant Breeding*, 2008. – 127. – P. 333-339.
 60. Wilde P., C-C. Schön, V. Korzun, E. Ebmeyer, M. Schmolke, L. Hartl, T. Miedaner / Marker-based introduction of three quantitative-trait loci conferring resistance to Fusarium head blight into an independent elite winter wheat breeding population // *Theor. Appl. Genet.*, 2008. – 117. – P. 29-35. - (DOI 10.1007/s11032-006-9067-5).
 61. Dobrovolskaya O., P. Martinek, A.V. Voylokov, **V. Korzun**, M.S. Röder, A. Börner / Microsatellite mapping of genes for inflorescence architecture in wheat (*T. aestivum*) and rye (*S. cereale*) // *Theor. Appl. Genet.*, 2009. – 119. – P. 867–874.
 62. Gustafson JP., X-F. Ma, **V. Korzun**, JW. Snape / A consensus map of rye integrating mapping data from five mapping populations // *Theor. Appl. Genet.*, 2009. – 118. – P. 793-800. - DOI 10.1007/s00122-008-0939-4.
 63. Fischer S., A. E. Melchinger, **V. Korzun**, P. Wilde, B. Schmiedchen, J. Möhring, H.-P. Piepho, T. Würschum, J.C. Reif / Molecular marker assisted broadening of the Central European heterotic groups in rye with Eastern European germplasm // *Theor. Appl. Genet.*, 2010. – 120. – P. 291-299.
 64. Meyer N., V. Lind, M. Heindorf, **V. Korzun**, W. Friedt, F. Ordon / Mapping and assessment of the diagnostic value of novel molecular markers linked to the eyespot resistance gene *Pch1* // *Euphytica*, 2010. – 177. 267-275 (DOI 10.1007/s10681-010-0266-0)
 65. Miedaner T., T. Würschum, H.P. Maurer, **V. Korzun**, E. Ebmeyer, J. C. Reif / Association mapping for Fusarium head blight resistance in soft European winter wheat // *Molecular Breeding*, 2010. – P. 1-9. - DOI: 10.1007/s11032-010-9516-z

66. Reif, J.C., M. Gowda, H.P. Maurer, C.F.H. Longin, **V. Korzun**, E. Ebmeyer, R. Bothe, C. Pietsch, T. Würschum / Association mapping for quality traits in soft winter wheat // *Theor Appl Genet.*, 2010. – 122 (5). – P. 961-970. - DOI: 10.1007/s00122-010-1502-7.
67. Von der Ohe C., E. Ebmeyer, **V. Korzun** and T. Miedaner / Agronomic and quality performance of winter wheat backcross populations carrying non-adapted Fusarium head blight resistance QTL // *Crop Science*, 2010. – 50. – P. 2283-2290.
68. Landjeva S., T. Karceva, **V. Korzun**, G. Ganeva / Seedling growth under osmotic stress and agronomic traits in Bulgarian semi-dwarf wheat: comparison of genotypes with *Rht8* and/or *Rht-B1* genes // *Crop & Pasture Science*, 2011. – 62. – P. 1017–1025. <http://dx.doi.org/10.1071/CP11257>
69. Li Y., A. Böck, G. Haseneyer, **V. Korzun**, P. Wilde, C.-C. Schön, D. Ankerst, E. Bauer Association of twelve candidate genes with frost tolerance in rye on controlled, semi-controlled and field phenotyping platforms // *BMC Plant Biology*, 2011. – 11.– P. 146. DOI: 10.1186/1471-2229-11-146
70. Li Y., G. Haseneyer, C.-C. Schön, D. Ankerst, **V. Korzun**, P. Wilde, E. Bauer / High levels of nucleotide diversity and fast decline of linkage disequilibrium in rye (*Secale cereale* L.) genes involved in frost response // *BMC Plant Biology*, 2011. – 11. – P. 6.
71. Reif, J.C., H.P. Maurer, **V. Korzun**, E. Ebmeyer, T. Miedaner, T. Würschum / Mapping QTLs with main and epistatic effects underlying grain yield and heading time in soft winter wheat // *Theor Appl Genet.*, 2011. - DOI 10.1007/s00122-011-1583-y.
72. Worch S., R. Kalladan, V.T. Harshavardhan, C. Pietsch, **V. Korzun**, L. Kuntze, A. Börner, U. Wobus, M. S. Röder and N. Sreenivasulu / Haplotyping, linkage mapping and expression analysis of barley genes regulated by terminal drought stress influencing seed quality // *BMC Plant Biology*, 2011. - 11:1 ID: 1610900813404887.
73. Comadran, J., Kilian, B., Russell, J., Ramsay, L., Stein, N., Ganal, M., Shaw, P., Bayer, M., Thomas, W., Marshall, D., Hedley, P., Tondelli, A., Pecchioni, N., Francia, E., **Korzun, V.**, Walther, A. and R. Waugh / A homologue of *Antirrhinum* CENTRORADIALIS is a component of the quantitative photoperiod and vernalization independent EARLINESS PER SE 2 locus in cultivated barley // *Nature Genetics*, 2012. – 44. – P. 1388-1392 <https://doi.org/10.1038/ng.2447>
74. Ganeva G., **V. Korzun** / Microsatellite genetic diversity analysis and allelic variation comparison of obsolete and modern Bulgarian bread wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties // *Cereal Research Communications*, 2012. – vol. 40. – no. 1, - P. 14–23.
75. Hackauf B., **V. Korzun**, H. Wortmann, P. Wilde, P. Wehling / Development of COS Markers for the Restorer Gene *Rfp1* in Rye // *Molecular Breeding*,

2012. - Volume 30. - Issue 3. – P. 1507-1518. - DOI 10.1007/s11032-012-9736-5.
76. Miedaner T., M. Hübner, **V. Korzun**, B. Schmiedchen, E. Bauer, G. Haseneyer, P. Wilde, J. C. Reif / Genetic architecture of complex agronomic traits in hybrid rye // *BMC Genomics*, 2012. – 13. – P. 706. - doi:10.1186/1471-2164-13-706.
 77. Miedaner T., P. Risser, S. Paillard, T. Schnurbusch, B. Keller, L. Hartl, J. Holzapfel, **V. Korzun**, E. Ebmeyer, H.F. Utz / Broad-spectrum resistance loci for three quantitatively inherited diseases in two winter wheat populations // *Molecular Breeding*, 2012. - 29(3). – P. 731-742. - DOI 10.1007/s11032-011-9586-6.
 78. Miedaner T., **V. Korzun** / Marker-assisted selection for disease resistance in wheat and barley breeding // *J Phytopathology*, 2012 – vol. 102. – No. 6. P. 560-566.
 79. Spies A, **Korzun V**, Bayles R, Rajaraman J, Himmelbach A, Hedley PE, P. Schweizer / Allele mining in barley genetic resources reveals genes of race-non-specific powdery mildew resistance // *Front. Plant Sci.*, 2012. – 2. – P. 1-22. - doi: 10.3389/fpls.2011.00113.
 80. Cavanagh C., S. Chao, S. Wang, Be. Huang, S. Kiani, K. Forrest, C. Saintena, G. Brown-Guedira, A. Akhunov, D. See, G. Bai, M. Pumphrey, L. Tomar, D. Wone, S. Kong, M. Reynolds, M. Lopez da Silva, H. Bockelman, L. Talbert, J. Anderson, S. Dreisigacker, S. Baenziger, A. Carter, **V. Korzun**, P. Morrell, J. Dubcovsky, M. Sorrells, M. Hayden, E. Akhunov / Genome-wide comparative diversity uncovers multiple targets of selection for improvement in a worldwide sample of hexaploid wheat landrace and cultivars // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013. - vol. 110. - no. 20. – P. 8057–8062 www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1217133110
 81. Kollers S., B. Rodemann, J. Ling, **V. Korzun**, E. Ebmeyer, O. Argillier, M. Hinze, J. Plieske, D. Kulosa, M. Ganal, M. Röder / Genetic architecture of resistance to Septoria tritici blotch (*Mycosphaerella graminicola*) in European winter wheat // *Molecular Breeding*, 2013, pp. 1–13
 82. Kollers S., B. Rodemann, **V. Korzun**, E. Ebmeyer, O. Argillier, M. Hinze, J. Plieske, D. Kulosa, M. Ganal, M. Röder / Whole Genome Association Mapping of Fusarium Head Blight in European Winter Wheat (*Triticum aestivum* L.) // *PLoS ONE*, 2013. – vol. 8. – no. 2. - e57500. doi: 10.1371/journal.pone.0057500.
 83. Matthies I.E., S. Weise, J. Förster, **V. Korzun**, N. Stein, M.S. Röder / N-metabolism related genes in barley – haplotype diversity, linkage mapping and association analysis with malting and kernel quality parameters // *BMC Genetics*. 2013. – 14. 77 DOI: 10.1186/1471-2156-14-77.

84. Miedaner T., Y. Zhao, M. Gowda, C. FH. Longin, **V. Korzun**, E. Ebmeyer, E. Kazman, JC. Reif / Genetic architecture of resistance to *Septoria tritici blotch* in European wheat // BMC Genomics, 2013. – 14(1). – P. 858.
85. Whitford R., D. Fleury, JC. Reif, M. Garcia, T. Okada, **V. Korzun**, P. Langridge / Hybrid Breeding in Wheat. Current Status and Future Perspectives // Journal of Experimental Botany, 2013. - doi:10.1093/jxb/ert333.
86. Zhao Y., M. Gowda, T. Würschum, CFH. Longin, **V. Korzun**, S. Kollers, R. Schachschneider, J. Zeng, R. Fernando, J. Dubcovsky, JC. Reif / Dissecting the genetic architecture of frost tolerance in Central European winter wheat // Journal of Experimental Botany, 2013. - doi: 10.1093/jxb/ert259.
87. Kollers S., B. Rodemann, J. Ling, **V. Korzun**, E. Ebmeyer, O. Argillier, M. Hinze, J. Plieske, D. Kulosa, M. Ganal, M. Röder / Genome wide association mapping of tan spot resistance (*Pyrenophoratrifici-repentis*) in European Winter Wheat // Mol Breeding, 2014. – 34. – P. 363–371 DOI 10.1007/s11032-014-0039-x
88. Jiang Y., Y. Zhao, B. Rodemann, J. Plieske, S. Kollers, **V. Korzun**, E. Ebmeyer, O. Argillier, M. Hinze, J. Ling, MS. Röder, MW. Ganal, MF. Mette, JC. Reif / Potential and limits to unravel the genetic architecture and predict the variation of Fusarium head blight resistance in European winter wheat (*Triticum aestivum* L.) // Heredity, 2015. – 114. – P. 318-326. dx.doi.org/10.1038/hdy.2014.104.
89. Seiler C., VT. Harshavardhan, PS. Reddy, G. Hensel, J. Kumlehn, G. Selvaraj, L. Eschen-Lippold, K. Rajesh, **V. Korzun**, U. Wobus, J. Lee, N. Sreenivasulu / Transgenic barley plants with altered abscisic acid flux exhibit differential ABA signalling responses and impacts water use efficiency under terminal drought stress // Plant Physiology, 2014. - DOI:10.1104/pp.113.229062.
90. Simmonds J., P. Scott, M. Leverington-Waite, AS. Turner, J. Brinton, **V. Korzun**, J. Snape, C. Uauy / Identification and independent validation of a stable yield and thousand grain weight QTL on chromosome 6A of hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) // BMC Plant Biology, 2014. – 14. – P. 191. - doi:10.1186/s12870-014-0191-9.
91. Weidenbach D., M. Jansen, RB. Franke, G. Hensel, W. Weissgerber, S. Ulferts, I. Jansen, L. Schreiber, **V. Korzun**, R. Pontzen, J. Kumlehn, K. Pillen, U. Schaffrath / Evolutionary conserved function of barley and Arabidopsis 3-KETOACYL-Co ASYNTHASES in providing wax signals for germination of powdery mildew fungi // Plant Physiology, 2014. – 166. – P. 1621-1633. <http://dx.doi.org/10.1104/pp.114.246348>
92. Zanke C., J. Ling, J. Plieske, S. Kollers, E. Ebmeyer, **V. Korzun**, O. Argiller, G. Stiewe, M. Hinze, S. Beier, MW. Ganal, MS. Röder / Genetic Architecture of Main Effect QTL for Heading Date in European Winter

- Wheat // *Frontiers in Plant Science*, section Plant Genetics and Genomics, 2014. – 5. – P. 217. - doi: 10.3389/fpls.2014.00217xxx.
93. Parat F., G. Schwertfirm, U. Rudolph, T. Miedaner, **V. Korzun**, E. Bauer, A. Tellier, C.-C. Schön / Geography and end use drive the diversification of worldwide winter rye populations // *Molecular Ecology*, 2015. - doi: 10.1111/mec.13495.
 94. Zanke C, Ling J, Plieske J, Kollers S, Ebmeyer E, **Korzun V**, Argillier O, Stiewe G, Hinze M, Neumann F, Eichhorn A, Jaenecke C, Ganal MW, Röder MS / Analysis of main effect QTL for thousand grain weight in European winter wheat (*Triticum aestivum* L.) by genome-wide association mapping // *Frontiers in Plant Science*, 2015. – 6. – P. 644.
 95. Auinger H.-J., M. Schönleben, C. Lehermeier, M. Schmidt, **V. Korzun**, H. H. Geiger, H.-P. Piepho, A. Gordillo, P. Wilde, E. Bauer, C.-C. Schön / Model training across multiple breeding cycles significantly improves genomic prediction accuracy in rye (*Secale cereale* L.) // *Theor. Appl. Genet.*, 2016. - Nov. 129(11). – P. 2043-2053. <https://doi.org/10.1007/s00122-016-2756-5>
 96. Erath W., E. Bauer, U. Kastirr, M. Schmidt, **V. Korzun**, B. Schmiedchen, P. Wilde, C.-C. Schön / Oligogenic control of resistance to soil-borne viruses *SBCMV* and *WSSMV* in rye (*Secale cereale* L.) // *Plant Breeding*, 2016. - DOI: 10.1111/pbr.12411.
 97. Jiang Y., A.W. Schulthess, B. Rodemann, J. Ling, J. Plieske, S. Kollers, E. Ebmeyer, **V. Korzun**, O. Argillier, G. Stiewe, M. W. Ganal, M. S. Röder, J. C. Reif / Validating the Prediction Accuracies of Marker-Assisted and Genomic Selection of Fusarium Head Blight Resistance in Wheat Using an Independent Sample // *Theor. Appl. Genet.*, 2016. – 130. – P. 471–482. - DOI: 10.1007/s00122-016-2827-7.
 98. Lüders T., J. Ahlemeyer, J. Förster, J. Weyen, E. Roßa, **V. Korzun**, J. Lex, W. Friedt, F. Ordon / Verification of marker-trait associations in bi-parental winter barley (*Hordeum vulgare* L.) DH populations // *Molecular Breeding*, 2016. – 36. 14 DOI 10.1007/s11032-016-0438-2.
 99. Schmidt M., S. Kollers, A. Maasberg-Prelle, J. Großer, B. Schinkel, A. Tomerius, A. Graner, **V. Korzun** / Prediction of malting quality traits in barley based on genome-wide marker data to assess the potential of genomic selection // *Theor. Appl. Genet.*, 2016. – vol. 129. – Issue 2. – P. 203-213. - DOI 10.1007/s00122-015-2639-1.
 100. Bauer E., T. Schmutzer, I. Barilar, M. Mascher, H. Gundlach, M. M. Martis, S. O. Twardziok, B. Hackauf, A. Gordillo, P. Wilde, M. Schmidt, **V. Korzun**, K.F.X. Mayer, K. Schmid, C.-C. Schön, U. Scholz / Towards a whole-genome sequence for rye (*Secale cereale* L.) // *Plant. J.*, 2017. – 89. – P. 853-869. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/tpj.13436/pdf>
 101. Erath W., E. Bauer, D. B. Fowler, A. Gordillo, **V. Korzun**, M. Ponomareva, M. Schmidt, B. Schmiedchen, P. Wilde, C.-C. Schön / Exploring new

- alleles for frost tolerance in winter rye // *Theor. Appl. Genet.*, 2017 – 130. – P. 2151–2164. doi:10.1007/s00122-017-2948-7
102. Hackauf B., E. Bauer, **V. Korzun**, T. Miedaner / Fine Mapping of the Restorer Gene *Rfp3* in Rye (*Secale cereale* L.) // *Theor. Appl. Genet.*, 2017. - DOI 10.1007/s00122-017-2879-3xx.x
103. Schulthess Börgel A., J. C. Reif, J. Ling, J. Plieske, S. Kollers, E. Ebmeyer, **V. Korzun**, O. Argillier, G. Stiewe, M. W. Ganal, M. S. Röder, Y. Jiang / The roles of pleiotropy and close linkage as revealed by association mapping of yield and correlated traits of wheat (*Triticum aestivum* L.). // *Journal of Experimental Botany*, 2017. - doi:10.1093/jxb/erx214.
104. Herter C.P., E. Ebmeyer, S. Kollers, **V. Korzun**, W.L. Leiser, T. Würschum and T. Miedaner / *Rht24* reduces height in the winter wheat population 'Solitär × Bussard' without adverse effects on Fusarium head blight infection // *Theor. Appl. Genet.*, 2018. – 131. – P. 1263–1272 <https://doi.org/10.1007/s00122-018-3076-8>
105. Kochevenko A., Y. Jiang, C. Seiler, K. Surdonja, S. Kollers, J. C. Reif, **V. Korzun**, A. Graner / Identification of QTL hot spots for malting quality in two elite breeding lines with distinct tolerance to abiotic stress // *BMC Plant Biol.*, 2018. – 18. – P. 106. <https://doi.org/10.1186/s12870-018-1323-4>
106. Herter C.P., E. Ebmeyer, S. Kollers, **V. Korzun**, T. Würschum and T. Miedaner / Accuracy of within- and among-family genomic prediction for Fusarium head blight and Septoria tritici blotch in winter wheat // *Theor. Appl. Genet.*, 2019. - 132. – P. 1121-1135. <https://doi.org/10.1007/s00122-018-3264-6>
107. Miedaner T., C.P. Herter, E. Ebmeyer, S. Kollers, **V. Korzun** / Use of non-adapted QTL for Fusarium head blight resistance for breeding semi-dwarf wheat // *Plant Breeding*, 2019. – P.1-8. DOI: 10.1007/s00122-018-3264-6
108. Gorshkov V., Osipova E., Ponomareva M., Ponomarev S.N., Gogoleva N.E., Petrova O.E., Gogoleva O.A., Mescherov A., Balkin A., Vetchinkina E.P., Gogolev Y.V., **Korzun V.N.** // Rye snow mold-associated *Microdochium* species inhabiting a common area: variability in genetics, phenotype and extracellular enzymatic activities // *J. Fungi*, 2020. – 6. – P. 335. <https://doi:10.3390/jof6040335>
109. Gruner P., A.-K. Schmitt, K. Flath, B. Schmiedchen, J. Eifler, A. Gordillo, M. Schmidt, **V. Korzun**, F.-J. Fromme, D. Siekmann, A. Tratwal, J. Danielewicz, K. Marciniak, R. Kryzstofik, M. Niewińska, S. Koch, H.P. Piepho, T. Miedaner / Mapping stem rust (*Puccinia graminis* sp. *secalis*) resistance in self-fertile winter rye populations. // *Front. Plant Sci.*, 2020. – 11:667 <https://doi: 10.3389/fpls.2020.00667>
110. Muqaddasi Q.H., J. Brassac, E. Ebmeyer, S. Kollers, **V. Korzun**, O. Argillier, G. Stiewe, J. Plieske, M. W. Ganal, M. S. Röder / Genetic architecture and genome-wide prediction of grain protein content, grain starch content and grain hardness revealed via high-density SNP arrays

and pan-genome analyses in European winter wheat varieties // Scientific Reports, 2020. – 10.– P. 2541 <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69381-5>

111. Słomińska-Durdasiak K., S. Kollers, **V. Korzun**, D. Nowara, P. Schweizer, A. Djamei, J. C. Reif / Candidate-gene association mapping of wheat genes potentially involved in Fusarium head blight resistance and their verification in a biparental wheat population // Theor. Appl. Genet., 2020.- 133 341–351.
112. Ponomareva M. L., V.Yu. Gorskov, S.N. Ponomarev, **V. Korzun**, T. Miedaner / Snow mold of winter cereals – A complex disease and a challenge for resistance breeding / Theor. Appl. Genet., 2021. – 134.– P. 419-433. <https://doi.org/10.1007/s00122-020-03725-7>
113. Rabanus-Wallace T. M., B. Hackauf, M. Mascher, T. Lux, T. Wicker, H. Gundlach, M. Báez, A. Houben, K. F.X. Mayer, L. Guo, J. Poland, C. J. Pozniak, S. Walkowiak, J. Melonek, C. Praz, M. Schreiber, H. Budak, M. Heuberger, B. Steuernagel, B. Wulff, A. Börner, B. Byrns, J. Čížková, D. B. Fowler, A. Fritz, A. Himmelbach, G. Kaithakottil, J. Keilwagen, B. Keller, D. Konkin, J. Larsen, Q. Li, B. Myśków, S. Padmarasu, N. Rawat, U. Sesiz, B. Sezgi, A. Sharpe, H. Šimková, I. Small, D. Swarbreck, H. Toegelová, N. Tsvetkova, A. V. Voylokov, J. Vrána, E. Bauer, H. Bolibok-Bragoszewska, J. Doležel, A. Hall, J. Jia, **V. Korzun**, A. Laroche, X.-F. Ma, F. Ordon, H. Özkan, M. Rakoczy-Trojanowska, U. Scholz, A. H. Schulman, D. Siekmann, S. Stojalowski, V. Tiwari, M. Spannagl, N. Stein / Chromosome-scale genome assembly provides insights into rye biology, evolution, and agronomic potential // Nature Genetics, 2021. – 53.– P. 564–573. DOI: 10.1038/s41588-021-00807-0.
114. Reynolds M., O. K. Atkin, M. Bennett, M. Cooper, I. C. Dodd, M. J. Foulkes, C. Froberg, G. Hammer, I. R. Henderson, B. Huang, **V. Korzun**, S. R. McCouch, C. D. Messina, B. J. Pogson, G. Slafer, N. L. Taylor, P. E. Wittich / Addressing Research Bottlenecks to Crop Productivity // Trends in Plant Science, 2021. – 26.– P. 607-630. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2021.03.011>.
115. Zhao Y., P. Thorwarth, Y. Jiang, N. Philipp, A.W. Schulthess, P.H. G. Boeven, C. F. H. Longin, M. Gils, R. Schachschneider, J. Schacht, E. Ebmeyer, **V. Korzun**, E. Kazman, Vilson Mirdita, Jost Dörnte, Stefan Kontowski, Ralf Horbach, Hilmar Cöster, J. Holzappel, A. Jacobi, L. Ramgraber, C. Reinbrecht, N. Starck, P. Varenne, A. Starke, F. Schürmann, M. Ganal, A. Polley, S. Beier, U. Scholz, T. Würschum, R. Schmidt, J. C. Reif / Big data strategies for predicting grain yield of hybrids in wheat // Science Advances, 2021 (in press).

ПАТЕНТНЫЕ ЗАЯВКИ:

1. Wilde P., **V. Korzun**, J. Menzel, R. Zhou, N. Stein, B. Hackauf / Restorer plant // DE102015016445A, 2017, WO2017109012A1, 2017.
2. Wilde P., **V. Korzun**, J. Menzel, R. Zhou, N. Stein, B. Hackauf / Restorer plants // EP3393234A1, 2018, EA201891223A1, 2018.
3. Wilde P., **V. Korzun**, J. Menzel, R. Zhou, N. Stein, B. Hackauf / Restorer plants // US2019136245A1, 2019.

МОНОГРАФИИ (ГЛАВЫ В МОНОГРАФИЯХ):

1. Börner, A., **V. Korzun** and R.K. Varshney / Molecular maps in cereals: methodology and progress // In Cereals Genomics // Gurta P.K., R.K. Varshney (Eds) // Kluwer Academic Publisher, 2004. – P. 35-82.
2. Altpeter F., **V. Korzun** / Rye // In: Transgenic Crops, IV Pua E.C. and M.R. Davey (Eds) // Biotechnology in Agriculture and Forestry // Springer, Heidelberg, Germany, 2007. – P. 107-117.
3. Hackauf B., B.Truberg, H. Wortmann, F.J. Fromme, P. Wilde, J. Menzel, **V. Korzun**, S. Stojalowski / Minimizing ergot infection in hybrid rye by a smart breeding approach // In: Feldmann F, Alford D V, C. Furk (Eds) // Crop Plant Resistance to Biotic and Abiotic Factors – 2009. – P. 439-450.
4. Verstegen H., O. Köneke, **V. Korzun**, R von Broock / The world importance of barley and challenges to further improvements // Biotechnological Approaches to Barley Improvement // J. Kumlehn & N. Stein (Eds.), Biotechnology in Agriculture and Forestry, Springer – 2014. – P. 3-21.
5. Miedaner T., **V. Korzun** (Book Editors) // Applications of Genetics and Genomics Research in Cereals // Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition // Elsevier – 2018.- P 1-349.
6. Miedaner T., **V. Korzun**, E. Bauer / Genomics-based hybrid rye breeding // In Applications of Genetics and Genomics Research in Cereals // Genomics Miedaner T., **V. Korzun** (Eds.) // Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition // Elsevier – 2018.- P.329-344.
7. Hackauf B., T. Rabanus-Wallace, **V. Korzun** / Mapping of genes and QTL rye // The Rye Genome // Rabanus-Wallace T., N. Stein (Eds.) // Compendium of Plant Genomes // Springer Nature Switzerland AG – 2021 (in press).
8. Joanna Melonek J., **V. Korzun**, B. Hackauf / Genomics of self-incompatibility and male-fertility restoration in rye rye // The Rye Genome // Rabanus-Wallace T., N. Stein (Eds.) // Compendium of Plant Genomes // Springer Nature Switzerland AG – 2021 (in press).
9. **Korzun V.**, M. L. Ponomareva, M. E. Sorrells / Economic and academic importance of rye // The Rye Genome // Rabanus-Wallace T., N. Stein (Eds.) // Compendium of Plant Genomes // Springer Nature Switzerland AG – 2021 (in press).

БЛАГОДАРНОСТИ:

Выражаю свои искреннюю благодарность моей семье за постоянную поддержку и создание оптимальных условий для подготовки этой диссертационной работы.

Мои слова признательности моему дяде профессору Белорусской сельскохозяйственной академии Анвару Закировичу Латыпову[†]. Именно благодаря ему я избрал для себя генетику растений, получил первые импульсы научного познания.

Я очень благодарен академику АН Республики Беларусь Любовь Владимировне Хотылевой и член-корреспонденту АНБ Николаю Александровичу Картелю[†] (ИГиЦ, АНБ, Минск, Республика Беларусь), профессору Евгению Витальевичу Ананьеву[†] (ИОГен, РАН, Москва, Российская Федерация), A.J. Worland (JIC, Norwich, UK), которые непосредственным образом на ранних этапах способствовали моему вовлечению в молекулярную генетику зерновых культур.

Я благодарен и признателен профессору Andreas Börner (the Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Germany), профессору John W. Snape (John Innes Research Centre, Norwich, UK), профессору Mark E. Sorrells (Cornell University, Ithaca, USA) за поддержку на различных этапах моей научной карьеры.

И конечно же мои самые тёплые слова благодарности моим родителям Николаю Ананьевичу и Саиде Закировне Корзун, которые воспитали меня с любовью к труду, целеустремленностью и интересу к новому, ранее неизведанному и непознанному.

SUMMARY:

Great advances have been made in recent years in systems to detect DNA variation and in the technologies used to identify DNA markers linked to useful traits. While RFLP markers were the basis for earlier work in cereal crops, useful markers have been generated using simple sequence repeats (SSR). More recently, single nucleotide polymorphism (SNP) markers have been developed for rye and this marker system is predicted to accelerate advances in both marker development and implementation in breeding programs. Identification of markers linked to useful traits has been based on complete linkage maps, genetic mapping or/and on whole genome wide association studies (GWAS). Use of genomic selection (GS) can predict breeding values for non-phenotyped individuals and reduce breeding cycle time. In the presented work, the development of molecular genetic maps for major cereal crops, applications of molecular markers for characterisation of genetic resources, cytogenetic stock collections, identification of abiotic and biotic stress tolerance loci in rye, barley and wheat are presented and discussed.