

 pismavavilov.ru

DOI 10.18699/LettersVJ-2023-9-15

Обзор

Характеристика синтетической линии пшеницы – потенциального источника хозяйственно ценных признаков

И.Г. Адонина^{1, 2} ✉, М.В. Зорина¹, С.П. Мехдиева³, И.Н. Леонова¹, Е.Г. Комышев¹, Е.М. Тимонова^{1, 2}, Е.А. Салина^{2, 4}

Аннотация: Главная задача селекции мягкой пшеницы – расширение ее разнообразия по генам, определяющим хозяйственно значимые признаки. Важным источником генетического разнообразия служат родственные пшенице культурные и дикие виды злаков. Значительный интерес представляют синтетические амфиплоиды, объединяющие генетический потенциал сразу нескольких видов. В селекции мягкой пшеницы наиболее применимы синтетические гексаплоидные пшеницы, получаемые путем скрещивания различных тетраплоидных пшениц ($2n = 4x = 28$, AABB) с *Aegilops tauschii* ($2n = 2x = 14$, DD) или последовательным скрещиванием диплоидных доноров геномов А, В и D. В данной работе мы исследовали хромосомный состав и фенотипические особенности линии 1102, полученной от скрещивания гексаплоидной тритикале ($2n = 6x = 42$, BBAARR) и синтетической пшеницы ($2n = 6x = 42$, AADDSS). Эксперимент по выращиванию с яровизацией и без, а также анализ аллельного состава гена *VRN-1* позволили установить яровой образ жизни растений линии 1102. Цитогенетический анализ с использованием флуоресцентной гибридизации *in situ* показал, что кариотип линии не отличается от кариотипа мягкой пшеницы (BBAADD). Сравнительный анализ параметров формы зерна у 103 яровых сортов и линий гексаплоидной пшеницы с применением программы SeedCounter.2.3 показал, что линия 1102 существенно отличается от остальных образцов. Помимо округлой формы зерна для линии 1102 характерен компактный и остистый колос. По признаку «высота растения» ее можно отнести к карликовым или даже малорослым формам. Цитологическая стабильность гексаплоидного генома линии 1102 и ряд отличительных фенотипических особенностей позволяют рекомендовать ее в качестве донора признаков «короткостебельность» и «круглозерность» для селекции мягкой пшеницы.

Ключевые слова: синтетическая гексаплоидная пшеница; круглозерная пшеница; короткостебельная пшеница; фенотипирование; кариотипирование; FISH; GISH.

Для цитирования: Адонина И.Г., Зорина М.В., Мехдиева С.П., Леонова И.Н., Комышев Е.Г., Тимонова Е.М., Салина Е.А. Характеристика синтетической линии пшеницы – потенциального источника хозяйственно ценных признаков. *Письма в Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2023;9(3):117-125. DOI 10.18699/LettersVJ-2023-9-15

Благодарности: Работа поддержана Курчатовским геномным центром ИЦиГ СО РАН (соглашение № 075-15-2019-1662). Растения выращивали в ЦКП репродукции растений ИЦиГ СО РАН и в полевых условиях при поддержке бюджетного проекта № FWNR-2022-0017.

Review

Characteristics of the synthetic line of wheat – a potential source of agronomically valuable traits

I.G. Adonina^{1, 2} ✉, M.V. Zorina¹, S.P. Mehdiyeva³, I.N. Leonova¹, E.G. Komyshev¹, E.M. Timonova^{1, 2}, E.A. Salina^{2, 4}

Abstract: The main task of common wheat breeding is to expand its diversity in terms of genes that determine agronomically significant traits. Wheat-related cultivated and wild cereals are an important source of genetic diversity. Of considerable interest are synthetic amphiploids, which combine the genetic potential of several species at once. Synthetic hexaploid wheats obtained by crossing various tetraploid wheats ($2n = 4x = 28$, AABB) with *Aegilops tauschii* ($2n = 2x = 14$, DD) or by successively crossing diploid donors of A, B and

¹ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия
Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

² Курчатовский геномный центр Института цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия
Kurchatov Genomic Center of the Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

³ Национальный институт генетических ресурсов Азербайджана, Баку, Азербайджан
Genetic Resources Institute of Azerbaijan National Academy of Sciences, Baku, Azerbaijan

⁴ Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск, Россия
Novosibirsk State Agricultural University, Novosibirsk, Russia

 adonina@bionet.nsc.ru Адонина И.Г., Зорина М.В., Мехдиева С.П., Леонова И.Н., Комышев Е.Г., Тимонова Е.М., Салина Е.А., 2023

D genomes are most applicable in the breeding of common wheat. We studied the karyotype and phenotypic features of line 1102 obtained by crossing hexaploid triticale ($2n = 6x = 42$, BBAARR) and synthetic wheat ($2n = 6x = 42$, AADDSS) in this work. An experiment on growing with and without vernalization, as well as an analysis of the allelic composition of the *VRN-1* gene, made it possible to establish the spring habit of line 1102 plants. Cytogenetic analysis using fluorescent hybridization *in situ* showed that the karyotype of the line does not differ from the common wheat karyotype (BBAADD). Comparative analysis of grain shape parameters in 103 cultivars and lines of spring hexaploid wheat using the SeedCounter.2.3 program showed that line 1102 differs significantly from other samples. In addition to the spherical shape of the grain, line 1102 has a compact awned spike, according to the "plant height" trait it can be attributed to dwarf or even stunted forms. The cytological stability of the line 1102 hexaploid genome and a number of distinctive phenotypic features make it possible to recommend it as a donor of the "short stem" and "spherical grain" traits for the breeding of common wheat.

Key words: synthetic hexaploid wheat; sphaerococcoid wheat; short-stem wheat; phenotyping; karyotyping; FISH; GISH.

For citation: Adonina I.G., Zorina M.V., Mehdiyeva S.P., Leonova I.N., Komyshev E.G., Timonova E.M., Salina E.A. Characteristics of the synthetic line of wheat – a potential source of agronomically valuable traits. *Pisma v Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Letters to Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2023;9(3):117-125. DOI 10.18699/LettersVJ-2023-9-15 (in Russian)

Acknowledgements: The work was supported by the Kurchatov Genomic Center of the Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Agreement No. 075-15-2019-1662). The plants were grown at the Plant Reproduction Center for Collective Use of the Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences and in the field with the support of the budget project No. FWNR-2022-0017.

Введение

Главная задача селекции мягкой пшеницы – расширение ее разнообразия по генам, определяющим хозяйственно значимые признаки. Традиционно основное внимание уделяют устойчивости к болезням и вредителям, однако помимо этого существуют и другие селекционно значимые признаки. Для культурных злаков это, например, короткостебельность (определяет устойчивость к полеганию), круглозерность (важный технологический признак, способствующий эффективной переработке зерна), повышенное содержание белка и микроэлементов в зерне. Важным источником генетического разнообразия являются родственные пшенице культурные и дикие виды злаков. Значительный интерес представляют синтетические амфиплоиды, объединяющие генетический потенциал сразу нескольких видов. В селекции мягкой пшеницы наиболее применимы синтетические гексаплоидные пшеницы, получаемые путем скрещивания тетраплоидных видов *Triticum durum* Desf., *Triticum dicoccoides* (Koern. ex Aschers. et Graebn.) Schweinf. или *Triticum dicoccum* (Schrank) Schuebl. ($2n = 4x = 28$, AABB) с *Aegilops tauschii* Coss. ($2n = 2x = 14$, DD) или последовательным скрещиванием диплоидных доноров геномов A, B и D (Ogbonnaya et al., 2013; Kaur et al., 2022). Процесс создания синтетической гексаплоидной пшеницы по сути воспроизводит события естественной истории, в результате которых образовалась мягкая пшеница *Triticum aestivum* L. ($2n = 6x = 42$, AABBDD) – с той разницей, что каждый раз в нем задействованы новые генотипы. Стабильные гексаплоидные синтетические пшеницы могут затем успешно скрещиваться с мягкой пшеницей. Особенно активно участвуют в разработке и распространении по всему миру синтетических гексаплоидных пшениц специалисты CIMMYT (International Maize and Wheat Improvement Center, Международный центр улучшения кукурузы и пшеницы). С тех пор как в 1940-х гг. были разработаны первые синтетические гексаплоидные пшеницы, в CIMMYT создано более 1000 линий яровой и 180 линий озимой синтетической пшеницы (van Ginkel, Ogbonnaya, 2007). В период с 1997 по 2005 г. более 50 % всех селекционных линий в CIMMYT получены с участием синтетических гексаплоидных пшениц (Mujeeb-Kazi et al., 2009).

Применение в селекции находят также синтетические геномно-добавленные и геномно-замещенные формы, в которых геном D *T. aestivum* или синтетической пшеницы замещается гомеологичным геномом другого вида. Например, Е.Г. Жировым и коллегами на основе пшеницы сорта Аврора созданы синтетические геномно-замещенные формы Авродес, Аврозис, Авролата, Авротата, Авроале и Аврокум, у которых геном D мягкой пшеницы замещен на геномы *Aegilops speltoides* Tausch, *Aegilops sharonensis* Eig, *Aegilops umbellulata* Zhuk., *Aegilops uniaristata* Vis., *Secale cereale* L. и *Agropyron glaucum* (Desf. ex DC) Roem. & Schult соответственно. Кроме этого, получена геномно-добавленная форма *T. miguschovae*, у которой геном D от *Ae. tauschii* добавлен к геномам AG *T. militinae* Zhuk. et Migusch. (Жиров, 1989). Далее на основе этих синтетических форм получали различные интрогрессивные линии, сочетающие высокое содержание белка с устойчивостью к болезням. Наконец, с использованием этих интрогрессивных линий созданы новые сорта мягкой пшеницы (Давоян и др., 2012).

Одна из наиболее известных синтетических форм злаков – пшенично-ржаной амфиплоид, или тритикале. Первой получена октаплоидная тритикале ($2n = 8x = 56$, AABBDDRR) путем скрещивания *T. aestivum* с рожью и последующего удвоения числа хромосом. Гексаплоидная тритикале ($2n = 6x = 42$, AABBRR) создана скрещиванием с рожью тетраплоидных пшениц. Интересно, что при использовании в скрещивании синтетических гексаплоидных пшениц в результате элиминации хромосом генома D также часто образуются гексаплоидные тритикале (Hao et al., 2013; Гадималиева и др., 2018). Так, в 1970-х гг. в Национальном институте генетических ресурсов Азербайджана в результате стандартной половой гибридизации синтетической пшеницы AABBDD (*T. durum* × *Ae. tauschii* var. *meyeri*) с сорно-полевой рожью *S. cereale* subsp. *segetale* Zhuk. ($2n = 2x = 14$, RR) без гормональных препаратов и колхициновой обработки получен образец тритикале, который, по данным исследователей, отличается высоким потенциалом формообразования (Аминов, Мамедов, 1981; Мехтиева, Аминов, 2013; Алиева и др., 2015).

При всех достоинствах синтетических форм нельзя забывать о возможных проблемах. В частности, при переходе

на более высокий уровень пloidности часто наблюдается изменение экспрессии ряда генов, что связано с межгенными взаимодействиями (Ogbonnaya et al., 2013). Так, D. Bai и D.R. Knott (1992) обнаружили, что мягкая пшеница сорта Чайниз Спринг несет на хромосомах 1D, 2D и 4D локусы-супрессоры, подавляющие устойчивость к стеблевой ржавчине, полученную от *T. dicoccoides*. Помимо специфических супрессорных локусов следует учитывать, что процесс аллополиплоидизации генерирует два типа шока: гибридный, когда в одном ядре объединяются близкие, но в то же время дивергировавшие в процессе эволюции геномы; полиплоидный, связанный с дубликацией генетической информации. В исследованиях показано, что при этом происходят различные изменения на молекулярном уровне. Во вновь синтезированном аллополиплоиде одни гены могут замолчать в результате элиминации последовательностей ДНК или метилирования, а другие, наоборот, активироваться (Ogbonnaya et al., 2013). Поэтому перед введением в селекционный процесс какой-либо гибридной линии, полученной при участии синтетических амфилоидов, необходимо ее всестороннее изучение, которое включает подробное описание фенотипа, позволяющее выявить полезные признаки. Не менее важно проведение кариотипирования для обнаружения возможных хромосомных перестроек или нарушений, например скрытой анеуплоидии, когда число хромосом соответствует эуплоидному ($2n = 42$), но на самом деле наблюдается замена одной из хромосом негомологичной хромосомой – подобно случаям, выявленным Н.К. Zhang с коллегами у синтетических гексаплоидных пшениц (2013).

Цель настоящей работы – изучение хромосомного состава, биологических и хозяйственно важных признаков синтетической линии 1102, полученной в Национальном институте генетических ресурсов Азербайджана от скрещивания гексаплоидной тритикале ($2n = 6x = 42$, BBAARR) (Аминов, Мамедов, 1981) и синтетической пшеницы ($2n = 6x = 42$, AADDSS).

Материалы и методы

Растительный материал

Гибридная линия 1102 получена в Национальном институте генетических ресурсов Азербайджана от скрещивания гексаплоидной тритикале ($2n = 6x = 42$, BBAARR) и синтетической пшеницы ($2n = 6x = 42$, AADDSS) (рис. 1). Образец тритикале, участвовавший в скрещивании, получен профессором Н.Х. Аминовым от гибридизации синтетической пшеницы BBAADD (*T. durum* × *Ae. tauschii* var. *meyeri*) с сорно-полевой рожью *S. cereale* subsp. *segetale* ($2n = 2x = 14$, геном RR) (см. рис. 1) (Аминов, Мамедов, 1981). Далее в работе для него будет использовано название «тритикале Аминова».

Фенотипирование

Растения линии 1102 изучали в сравнении с разными сортами яровой мягкой пшеницы (табл. 1) в условиях гидропонной теплицы Института цитологии и генетики СО РАН (ИЦиГ СО РАН, Новосибирск) весной 2020 г. и в естественных условиях на экспериментальном участке ИЦиГ СО РАН (Новосибирская область) в 2022 г. В гидропонной теплице растения

выращивали на искусственном грунте – керамзите – при ежедневной двукратной водной подкормке раствором Кнопа, на 14-часовом режиме освещения; дневная/ночная температура составляла 18–20 °С до и 20–22 °С после кушения. Оценивали высоту растения и форму зерна (длина, ширина, длина/ширина, округлость). Плотность колоса (D – индекс плотности) рассчитывали по формуле: $D = (A - 1) \times 10/B$, где: $(A - 1)$ – число колосков колоса без верхушечного колоска; B – длина стержня колоса (Якубцинер, 1976). Обработку данных проводили с помощью программы Microsoft Excel.

Для определения образа жизни растения выращивали в теплице без яровизации и с яровизацией длительностью 60 дней при температуре +4 °С. Форму зерна сортов мягкой пшеницы и линии 1102 оценивали с применением программы SeedCounter.2.3 (Komyshev et al., 2017; Afonnikov et al., 2021). Фотографировали по 20 зерен каждого генотипа по 5 повторностям, перемешивая их на листе. Оценивали длину и ширину зерен, отношение длины к ширине, округлость.

Идентификация аллелей гена *VRN-1*

Для определения аллелей гена *VRN-1* у линии 1102 использованы опубликованные ранее геноспецифичные маркеры (табл. 2). Праймеры синтезированы в ООО «Биолабмикс» (Новосибирск). В качестве контроля применяли сорт мягкой пшеницы Чайниз Спринг с известным аллельным составом гена *VRN-1*: *vrn-A1 vrn-B1 Vrn-D1* (Yan et al., 2004; Fu et al., 2005).

Цитогенетический анализ

Флуоресцентную гибридизацию *in situ* (FISH) осуществляли в соответствии с ранее опубликованной методикой (Salina et al., 2006). Для идентификации хромосом использовали меченные с помощью реакции ник-трансляции пробы pSc119.2 (Bedbrook et al., 1980) и pAs1 (Rayburn, Gill, 1986). Зонды Spelt1 и Spelt52 (Salina et al., 2006) применяли для выявления возможных транслокаций и хромосомных замещений с участием *Ae. speltoides*. Геномную гибридизацию *in situ* (GISH) с ДНК ржи проводили в соответствии с ранее опубликованной методикой (Schubert et al., 1998). Работы выполняли в ЦКП микроскопического анализа биологических объектов СО РАН (Новосибирск).

Результаты

Определение образа жизни

Эксперимент по выращиванию линии 1102 в теплице показал, что у растений, прошедших яровизацию, время колошения составило 28.00 ± 0.15 дня, а у растений без яровизации – 38.3 ± 0.28 дня.

Основной вклад в контроль времени колошения и созревания гексаплоидной пшеницы вносит ген *VRN-1*, представленный тремя локусами: *VRN-A1*, *VRN-B1* и *VRN-D1*, расположенными в хромосомах 5A, 5B и 5D соответственно (Law et al., 1975; Galiba et al., 1995; Dubcovsky et al., 1998). По этой причине мы провели анализ гена *VRN-1* у линии 1102, который позволил выявить доминантные аллели в локусах *VRN-A1* и *VRN-B1* (рис. 2). Длина фрагмента амплификации с праймерами к аллелю *vrn-D1* в случае линии 1102 значительно отличается от ожидаемой (см. табл. 2) и составляет примерно 1800 пн.

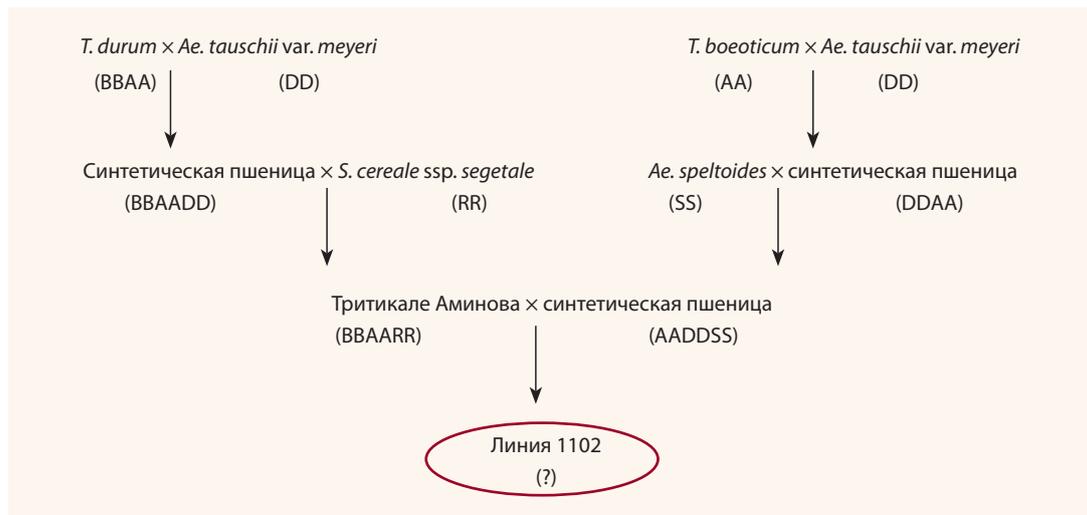


Рис. 1. Схема получения линии 1102
Fig. 1. Scheme of line 1102 obtaining

Кариотипирование линии 1102

Поскольку монохромное окрашивание не позволяет идентифицировать отдельные хромосомы пшеницы, для оценки кариотипа исследуемой линии мы применили метод FISH с зондами, разработанными на основе различных повторяющихся последовательностей. Наиболее часто для идентификации хромосом пшеницы используют пробы рSc119.2 и рAs1 (Schneider et al., 2003). По данным FISH с этими зондами у линии 1102 не выявлено отличий от кариотипа сортов мягкой пшеницы (Schneider et al., 2003) (рис. 3, а).

Исходя из родословной линии 1102 (см. рис. 1) можно предположить присутствие в ее геноме хромосом и/или транслокаций от ржи и *Ae. speltooides*. Поэтому мы провели GISH с ДНК *S. cereale* и FISH с зондами Spelt1 и Spelt52, специфичными для генома *Ae. speltooides* (выполнение GISH с ДНК *Ae. speltooides* затруднено из-за близости геномов В пшеницы и *S. эгилопса*). Использованы следующие комбинации зондов: рSc119.2 и Spelt1 (см. рис. 3, в), рAs1 и ДНК ржи, рSc119.2 и Spelt52. Целые хромосомы и хромосомные транслокации ржи у исследуемой линии не обнаружены. Сайты гибридизации с зондом Spelt52 не выявлены. На концах длинных плеч хромосом 3В определены блоки повтора Spelt1 (см. рис. 3, в), что может указывать на транслокацию от *Ae. speltooides*. Однако сайты Spelt1 на 3ВL могут быть и у некоторых образцов тетраплоидных пшениц (Salina et al., 2006), в частности у *T. durum*, а данный вид пшеницы присутствует в родословной линии 1102 (тритикале Аминова получена при участии *T. durum*). В связи с этим мы проверили наличие блоков Spelt1 на хромосомах тритикале, использованной для создания исследуемой линии. Гибридизация с зондами рSc119.2 и Spelt1 показала, что блоки повторов Spelt1 присутствуют у тритикале Аминова (см. рис. 3, б). Таким образом, наличие данных блоков в кариотипе исследуемой линии не свидетельствует о транслокациях от *Ae. speltooides*, блоки повторов Spelt1 унаследованы от *T. durum*. В результате мы можем заключить, что кариотип линии 1102 не отличается от кариотипа мягкой пшеницы (BBAADD).

Фенотипирование

Линию 1102 характеризует короткий, плотный (индекс плотности 24–27), остистый колос (рис. 4).

Поскольку наиболее важными, потенциально хозяйственно ценными характеристиками линии 1102 являются короткостебельность и зерно округлой формы, мы оценили признаки «высота растения» (см. рис. 4, 5) и «форма зерна» (см. рис. 4, 6) у данной линии в сравнении с другими образцами мягкой пшеницы (см. табл. 1).

Высота растений линии 1102 в полевых условиях составляла 34.50 ± 2.12 см. В теплице этот показатель варьировал в пределах 43.6 ± 4.9 см. Для оценки формы зерна выбраны следующие параметры: длина и ширина зерна, отношение длины к ширине, округлость зерна. Показателен график распределения различных сортов мягкой пшеницы (102 сорта) по параметрам «отношение длины к ширине» и «округлость зерна» (см. рис. 6), на котором хорошо видно, насколько отличается гибридная линия 1102 от остальных представленных образцов.

Обсуждение

Основными характеристиками линии 1102, выделенной из гибридной популяции тритикале ($2n = 6x$) x синтетическая пшеница ($2n = 6x$), служат короткостебельность и зерновки округлой формы, однако подробно данные признаки, тем более в условиях Западной Сибири, не описывали. До настоящего времени не было известно, является ли линия 1102 яровой или озимой, ее кариотип детально не изучали.

В условиях Азербайджана в силу мягкости климата посев линии 1102 проводили осенью, и было сложно определить ее потребность в яровизации. Результаты нашего эксперимента по выращиванию линии 1102 в теплице с яровизацией и без нее свидетельствуют о том, что линия является яровой. Анализ гена *VRN-1*, позволивший выявить у линии 1102 доминантные аллели в локусах *VRN-A1* и *VRN-B1*, подтверждает этот вывод. Из литературных источников известно, что присутствие доминантного аллеля хотя бы в одном

Таблица 1. Перечень сортов яровой мягкой пшеницы, использованных при оценке признаков
Table 1. List of spring common wheat cultivars used for traits assessment

Признак	Сорта яровой мягкой пшеницы
Высота растения	Александрина, Алешина, АН-34, Ангарида, Алтайская 92, Алтайская 99, Алтайская 100, Алтайская 325, Алтайская 530, Алтайский простор, Альбидум 73, Баганская 93, Бэль, Веснянка 8, Волгоуральская, Дарница, Диас 2, Златозара, Изидя, Икар, Ильинская, Казачка, Кантегирская 89, Катюша, Кийская, Кинельская 40, Кинельская 60, Краса 2, Куйбышевская 2, Латона, Лютесценс 25, Лютесценс 80, Лютесценс 85, Лютесценс 101, Лютесценс 148, Лютесценс 840, Мана 2, Мариинка, Мария, Новосибирская 15, Новосибирская 20, Новосибирская 22, Новосибирская 29, Новосибирская 67, Новосибирская 81, Новосибирская 89, Новосибирская 91, Ностальгия, Обская 14, Омская 20, Омская 23, Омская 24, Омская 26, Омская 28, Омская 29, Омская 31, Омская 32, Омская 33, Омская 34, Омская 36, Отрада Сибири, Полюшко, Прииртышская 86, Провинция, Речка, Росинка 2, Рыбинская 127, Салимовка, Серебрина, Сибирская 12, Сирена, Скэнт 1, Соната, Страда Сибири, Сурента 1, Сурента 4, Сурента 5, Сурента 6, Сурента 7, Тарская 6, Терция, Тулайковская 1, Тулайковская 10, Тулайковская белозерная, Тулайковская золотистая, Тулайковская степная, Тулеевская, Туринская, Тюменская 99, Удача, Устья, Чернява 13, Эритроспермум 72
Форма зерна	Сорта, использованные для измерения высоты растения и дополнительно: Лютесценс 62, Обская 2, Саратовская 29, Саратовская 42, Тулун, Янецкис Пробат

Таблица 2. Маркеры, использованные для определения аллелей гена *VRN-1*
Table 2. Markers used to determine alleles of the *VRN-1* gene

Аллель	Структура праймеров	Ожидаемый размер ДНК-фрагмента, пн	Лит. источник
<i>Vrn-A1a</i>	Vrn1AF: GAAAGGAAAAATTCTGCTCG	876 и 965	Yan et al., 2004
<i>Vrn-A1b</i>	Int1R: GCAGGAAATCGAAATCGAAG	714	
<i>vrn-A1</i>		734	
<i>Vrn-B1a</i>	Intr1: ATCATCTTCTCCACCAAGGG	1124	Fu et al., 2005;
<i>Vrn-B1c</i>	Intr1/B/R3: CTCATGCCAAAAATTGAAGATGA	737	Shcherban et al., 2012
<i>vrn-B1</i>	Intr1/B/F: CAAGTGGAAACGGTTAGGACA	1149	Fu et al., 2005
	Intr1/B/R4: CAAATGAAAAGGAATGAGAGCA		
<i>Vrn-D1a</i>	Intr1/D/F: GTTGCTGCCTCATCAAATCC	1671	Fu et al., 2005
	Intr1/D/R3: GGTCACGTGGTCTGTGC		
<i>vrn-D1</i>	Intr1/D/F: GTTGCTGCCTCATCAAATCC	997	Fu et al., 2005
	Intr1/D/R4: AAATGAAAAGGAACGAGAGC		

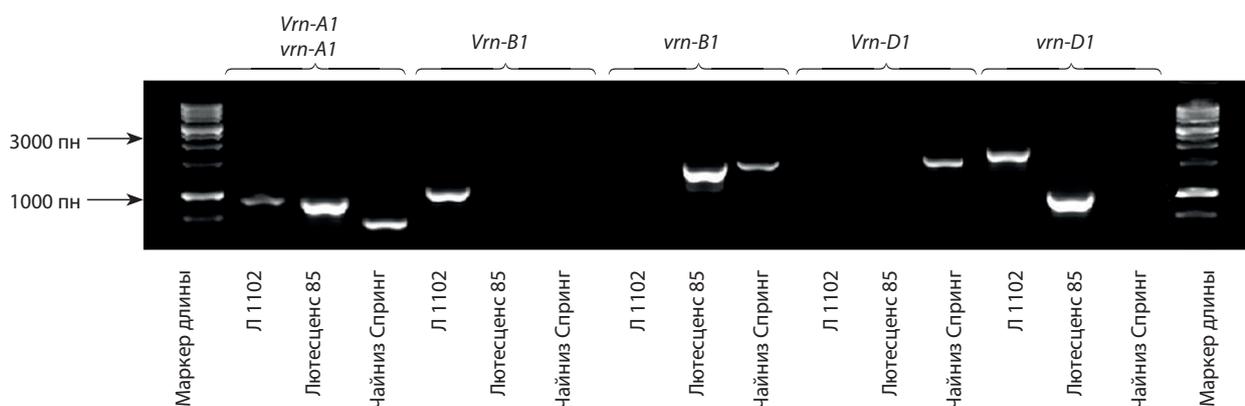


Рис. 2. ПЦР-амплификация с маркерами к аллелям генов *VRN-A1*, *VRN-B1* и *VRN-D1*

Fig. 2. PCR amplification with markers to the alleles of the *VRN-A1*, *VRN-B1* and *VRN-D1* genes

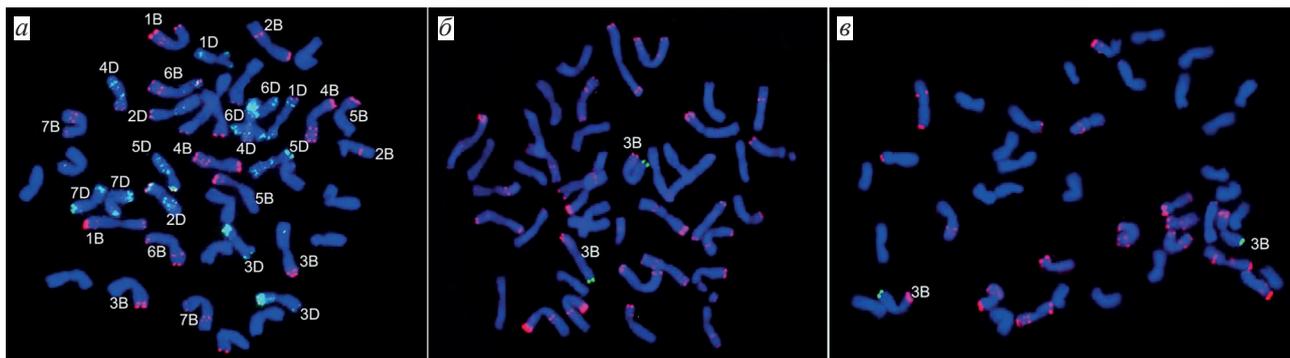


Рис. 3. Результаты FISH на метафазных хромосомах линии 1102 (а, в) и тритикале Аминова (б) с зондами: pSc119.2 (красный), pAs1 (зеленый) (а); pSc119.2 (красный), Spelt1 (зеленый) (б, в)

Fig. 3. FISH on metaphase chromosomes of line 1102 (a, b) and Aminov triticale (c) with probes: pSc119.2 (red), pAs1 (green) (a); pSc119.2 (red), Spelt1 (green) (b, c)

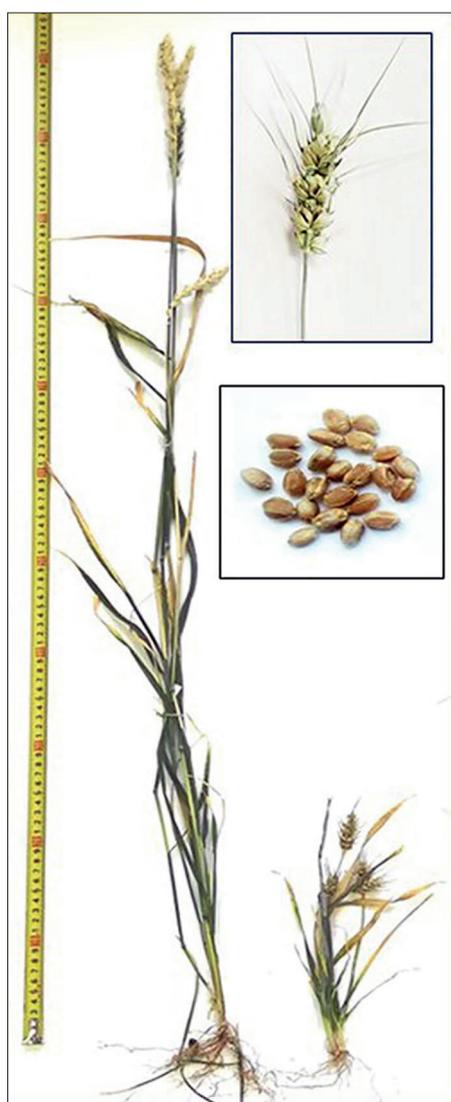


Рис. 4. Растения гибридной линии 1102 (справа) и сорта Лютесценс 85 (слева); колос и зерновки линии 1102

Fig. 4. Plants of the hybrid line 1102 (right) and cultivar Lutescens 85 (left); spike and grains of line 1102

из локусов гена *VRN-1* приводит к проявлению фенотипа яровой пшеницы, причем доминантные аллели *Vrn-A1* обуславливают полную нечувствительность к яровизации (Pugsley, 1971). То, что линия 1102 является яровой, важно для Западно-Сибирского региона, где из-за особенностей климата преимущество отдают именно яровым сортам пшеницы. Интересно, что длина фрагмента амплификации с праймерами к аллелю *vrn-D1* в случае линии 1102 значительно отличается от ожидаемой и составляет примерно 1800 пн. По-видимому, это связано с происхождением генома D данной линии от одного из образцов *Ae. tauschii* var. *meyeri* (см. рис. 1). Без дополнительного исследования невозможно сделать вывод, какому аллелю локуса *VRN-D1* соответствует данный фрагмент – рецессивному или доминантному. Так, А. Muterko с коллегами (2015) выявили у ряда образцов *T. spelta* L. и *T. compactum* Host доминантный аллель *Vrn-D1s*, для которого длина фрагмента амплификации с этими же праймерами составила 1841 пн.

Линия 1102 проявила стабильность в поколениях от самоопыления, однако до настоящего исследования ее кариотип подробно не был изучен. Несмотря на то что линия 1102 является синтетической гексаплоидной пшеницей сложного происхождения (см. рис. 1), кариотипирование методом FISH не показало отличий от кариотипа сортов мягкой пшеницы. Целые хромосомы и хромосомные транслокации ржи и *Ae. speltoides* у исследуемой линии не обнаружены. Таким образом, вероятно, линию 1102 можно успешно использовать для скрещивания с разными сортами и линиями мягкой пшеницы.

К наиболее привлекательным для селекционеров признакам линии 1102 следует отнести короткостебельность и округлую форму зерна. Направленность на выведение низкорослых сортов зерновых культур возникла под влиянием интенсивного земледелия, особенно важным для которого оказался такой признак, как устойчивость к полеганию, в значительной мере связанный с высотой растения. Генетический контроль этого признака у мягкой пшеницы имеет сложный характер. Гены, определяющие высоту растения, локализованы в разных хромосомах и обладают разной эффективностью. В настоящее время насчитывают 22 ос-

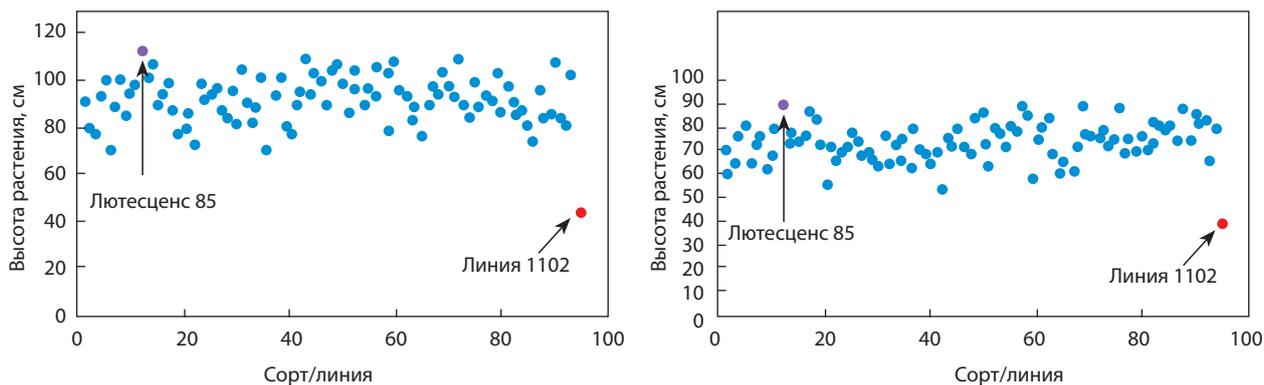


Рис. 5. Средние значения показателя «высота растений» у разных сортов и линий мягкой пшеницы: теплица, весна 2020 г. (а); поле 2022 г. (б)
Fig. 5. Average values of the “plant height” trait for different cultivars and lines of common wheat: greenhouse, spring 2020 (a); field 2022 (b)

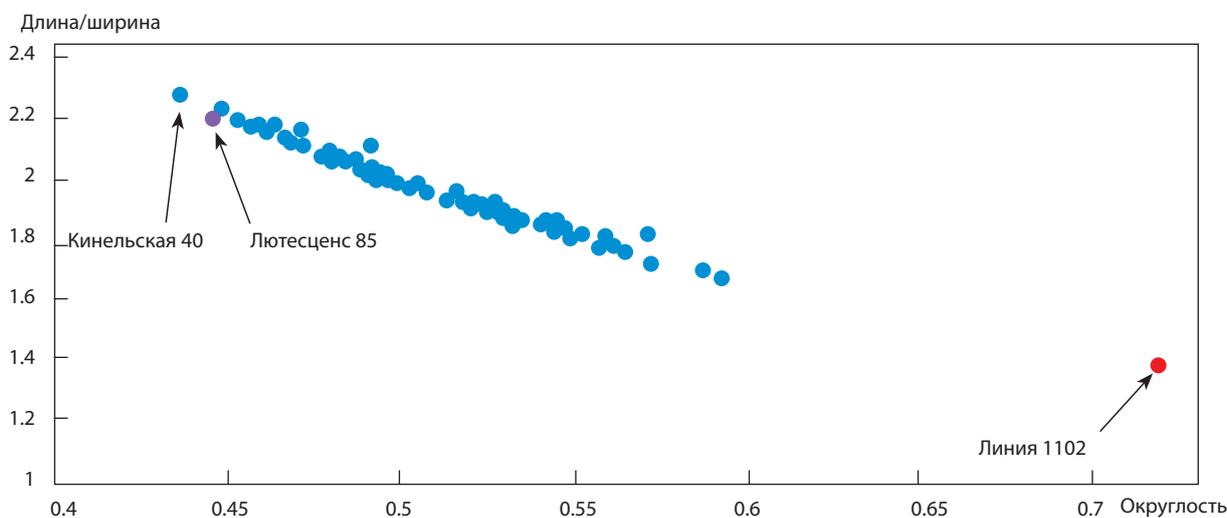


Рис. 6. График распределения различных сортов мягкой пшеницы по параметрам «длина/ширина» и «округлость зерна»
Fig. 6. The distribution of different cultivars of common wheat in terms of length/width and grain roundness

новых гена (McIntosh et al., 2013), которые обозначаются как *Rht* (reduced plant height). Следует отметить, что многим генам короткостебельности свойственна плейотропия. Причем влияние, оказываемое на хозяйственно полезные признаки, может быть как положительным, так и отрицательным (Чеботарь и др., 2006). Например, гены *Rht5* и *Rht7* оказывают негативный эффект на урожайность (Чеботарь и др., 2006). В ряде работ показано, что при интенсивных технологиях возделывания существенное увеличение урожайности дают растения только с полукарликовым и короткостебельным фенотипами, характеризующиеся уменьшением длины стебля на 20–30 и 40–50 % от нормы (стандарта) соответственно (Сухих и др., 2021). Линию 1102 можно отнести к карликовым или даже малорослым формам (уменьшение длины стебля на 50–70 %). Однако такое снижение высоты растения может быть вызвано воздействием нескольких генов (аллелей) на данный признак. Среди них могут встретиться ранее неизвестные полезные варианты.

Сферическая форма зерна привлекательна для современной пищевой промышленности тем, что при его пере-

работке выход муки оказывается значительно выше, чем при переработке зерна удлиненной формы. На основании результатов моносомного анализа гены сферококкоидности локализованы на хромосомах 3D, 3В, 3А и обозначены как S1, S2, S3 (Maystrenko et al., 1998), позже они картированы в прицентромерных районах соответствующих хромосом (Salina et al., 2000). Гены сферококкоидности обладают плейотропным эффектом, определяя дополнительно целый комплекс полезных признаков: жесткий короткий стебель (устойчивость к полеганию), прямой флаговый лист, плотный колос. Однако возможно, что округлая форма зерна у растений линии 1102 зависит от других, еще неизвестных генов.

Заключение

Проведено предварительное исследование синтетической линии гексаплоидной пшеницы 1102, характеризующейся такими интересными для селекции свойствами, как короткостебельность и круглозерность. Мы оценили ее фенотип, установили, что данная линия не несет крупных хромосом-

ных перестроек. Дальнейшая работа будет направлена на выявление у линии 1102 уже известных генов (аллелей), отвечающих за проявление исследуемых признаков, и на картирование новых целевых локусов количественных признаков (QTLs). На данном этапе выделены сорта мягкой пшеницы, контрастные с линией 1102 по изучаемым признакам, для получения картирующей популяции. Один из таких сортов – сорт мягкой пшеницы Лютеценс 85 (см. рис. 4) из коллекции Всероссийского института генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), отличающийся повышенной массой зерна. В перспективе линия 1102 может быть использована как источник новых генов короткостебельности и круплозерности.

Список литературы / References

- Алиева А.Дж., Мехдиева С.П., Керимова Р.К. Создание короткостебельных линий с вавилоидным типом колоса и их цитогенетическая характеристика. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2015;19(1):91-96. DOI 10.18699/VJ15.01 [Alieva A.J., Mehdiyeva S.P., Kerimova R.K. Raise of short-stemmed vaviloid branched spike lines and their cytogenetics. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2015;19(1):91-96. DOI 10.18699/VJ15.01 (in Russian)]
- Аминов Н.Х., Мамедов А.Р. Некоторые особенности трёхродовых гибридов (*Triticum* × *Aegilops*) × *Secale*. Материалы VI съезда генетиков и селекционеров Азербайджана. Баку: Элм, 1981;26 [Aminov N.Kh., Mamedov A.R. Some features of three-generic hybrids (*Triticum* × *Aegilops*) × *Secale*. Materials of the VI Congress of Geneticists and Breeders of Azerbaijan. Baku: Elm Publ., 1981;26 (in Russian)]
- Гадималиева Г.А., Керимова Р.К., Аминов Н.Х. Гибридизация между синтетической пшеницей и рожью. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2018;1:135-138 [Gadimalieva G.A., Kerimova R.K., Aminov N.Kh. Hybridization between synthetic wheat and rye. *International Journal of Applied and Fundamental Research*. 2018;1:135-138 (in Russian)]
- Давоян Р.О., Бебякина И.В., Давоян О.Р., Зинченко А.Н., Давоян Э.Р., Кравченко А.М., Зубанова Ю.С. Синтетические формы как основа для сохранения и использования генофонда диких сороричей мягкой пшеницы. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2012;16(1):44-51 [Davoyan R.O., Bebyakina I.V., Davoyan O.R., Zinchenko A.N., Davoyan E.R., Kravchenko A.M., Zubanova Y.S. Use of synthetic forms in the preservation and exploitation of the gene pool of wild common wheat relatives. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2012;16(1):44-51 (in Russian)]
- Жилов Е.Г. Геномы пшеницы: исследование и перестройка: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Киев, 1989;1-36 [Zhirov E.G. Wheat genomes: research and restructuring. Doctor Sci. (Biol.) Dissertation. Kyiv, 1989;1-36 (in Russian)]
- Мехтиева С.П., Аминов Н.Х. Формообразовательный процесс при скрещиваниях гексаплоидного тритикале с полбой. *Фундаментальные исследования*. 2013;11(6):1191-1196 [Mekhtieva S.P., Aminov N.K. Morphotype forming in hybrid progenies of 6x-triticale and emmer wheat. *Fundamentalnye Issledovaniya = Fundamental Research*. 2013;11(6):1191-1196 (in Russian)]
- Сухих И.С., Вавилова В.Ю., Блинов А.Г., Гончаров Н.П. Разнообразие и фенотипический эффект аллельных вариантов короткостебельности *Rht* у пшениц. *Генетика*. 2021;57(2):127-139. DOI 10.1134/S1022795421020101 [Sukhikh I.S., Vavilova V.J., Blinov A.G., Goncharov N.P. Diversity and phenotypical effect of allelic variants of *Rht* dwarfing genes in wheat. *Rus. J. Genet.* 2021;57(2):127-138. DOI 10.1134/S1022795421020101 (in Russian)]
- Чеботарь С.В., Бёрнер А., Сиволап Ю.М. Анализ генов короткостебельности в генотипах сортов мягкой пшеницы Украины. *Цитология и генетика*. 2006;40(4):12-23 [Chebotar S.V., Börner A., Sivolap Yu.M. Analysis of the dwarfing genes in the genotypes of bread wheat cultivars of Ukraine. *Tsitologiya i Genetika = Cytology and Genetics*. 2006;40(4):12-23 (in Russian)]
- Якубцинер М.М. Пшеница. Описание культуры. Руководство по апробации сельскохозяйственных культур. М.: Колос, 1976;7-39. [Yakubtsiner M.M. Wheat. Description of culture. Guidelines for apr-obation of agricultural crops. Moscow: Kolos, 1976;7-39 (in Russian)]
- Afonnikov D.A., Komyshev E.G., Efimov V.M., Genaev M.A., Koval V.S., Gierke P.U., Börner A. Relationship between the characteristics of bread wheat grains, storage time and germination. *Plants (Basel)*. 2021;11(1):35. DOI 10.3390/plants11010035
- Bai D., Knott D.R. Suppression of rust resistance in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) by D-genome chromosomes. *Genome*. 1992;35(2):276-282. DOI 10.1139/g92-043
- Bedbrook J.R., Jones J., O'Dell M., Thompson R.D., Flavell R.B. A molecular description of telomeric heterochromatin in *Secale* species. *Cell*. 1980;19(2):545-560. DOI 10.1016/0092-8674(80)90529-2
- Dubcovsky J., Echaide M., Antonelli E.F., Lukaszewski A.J. Molecular characterization of two *Triticum speltoides* interstitial translocations carrying leaf rust and green bug resistance genes. *Crop Sci*. 1998;38(6):1655-1660. DOI 10.2135/cropsci1998.0011183X003800060040x
- Fu D., Szucs P., Yan L., Helguera M., Skinner J.S., von Zitzewitz J., Hayes P.M., Dubcovsky J. Large deletions within the first intron in *VRN-1* are associated with spring growth habit in barley and wheat. *Mol. Gen. Genomics*. 2005;273(1):54-65. DOI 10.1007/s00438-004-1095-4
- Galiba G., Quarrie S.A., Sutka J., Morgounov A., Snape J.W. RFLP mapping of the vernalization (*Vrn1*) and frost resistance (*Fr1*) genes on chromosome 5A of wheat. *Theor. Appl. Genet.* 1995;90(7-8):1174-1179. DOI 10.1007/BF00222940
- Hao M., Luo J., Zhang L., Yuan Z., Yang Y., Wu M., Chen W., Zheng Y., Zhang H., Liu L. Production of hexaploid triticale by a synthetic hexaploid wheat-rye hybrid method. *Euphytica*. 2013;193(3):347-357. DOI 10.1007/s10681-013-0930-2
- Kaur A., Kaur S., Sharma A., Chhuneja P. Channelizing novel diversity through synthetics for wheat improvement. P.L. Kashyap, V. Gupta, O.P. Gupta, R. Sendhil, K. Gopalareddy, P. Jasrotia, G.P. Singh (eds). In: New horizons in wheat and barley research global trends. Breeding and quality. Singapore: Springer Singapore, 2022. DOI 10.1007/978-981-16-4134-3
- Komyshev E., Genaev M., Afonnikov D. Evaluation of the SeedCounter, a mobile application for grain phenotyping. *Front. Plant Sci*. 2017;7:1990. DOI 10.3389/fpls.2016.01990
- Law C.N., Worland A.J., Giorgi B. The genetic control of ear-emergence time by chromosomes 5A and 5D of wheat. *Heredity*. 1975;36:49-584
- Maystrenko O.I., Laikova L.I., Arbusova V.S., Melnik V. M. The chromosomal location of the *S1*, *S2* and *S3* genes of induced sphaeroocoid mutations in common wheat. *EWAC Newsl. Proc 10th EWAC meeting*. Italy: University of Tuscia, 1998;127-130
- McIntosh R.A., Yamazaki Y., Dubcovsky J., Rogers J., Morris C., Appels R., Xia X.C. Catalogue of gene symbols for wheat. 2013. Available: <https://wheat.pw.usda.gov/GG3/sites/default/files/Catalogue%20of%20Gene%20Symbols%20for%20Wheat%20-%202021%20edition.pdf>
- Muterko A., Balashova I., Cockram J., Kalendar R., Sivolap Y. The new wheat vernalization response allele *Vrn-D1s* is caused by DNA transposon insertion in the first intron. *Plant Mol. Biol. Rep.* 2015;33:294-303. DOI 10.1007/s11105-014-0750-0
- Mujeeb-Kazi A., Gul A., Ahmad I., Farooq M., Rauf Y., ur Rahman A., Riaz H. Genetic resources for some wheat abiotic stress tolerances. In: Ashraf M., Ozturk M., Athar H. (eds) Salinity water stress: tasks for vegetation and sciences. Dordrecht: Springer, Dordrecht, 2009;44:149-163. DOI 10.1007/978-1-4020-9065-3
- Ogbonnaya F.C., Abdalla O., Mujeeb-Kazi A., Kazi A.G., Xu S.S., Gosman N., Lagudah E.S., Bonnett D., Sorrells M.E., Tsujimoto H. Synthetic hexaploids: harnessing species of the primary gene pool for wheat improvement. Chapter 2. J. Janick (ed.). In: Plant Breeding Reviews. Volume 37. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, 2013;37:35-122. DOI 10.1002/9781118497869.ch2
- Pugsley A.T. A genetic analysis of the spring-wheat habit of growth in wheat. *Aust. J. Agric. Res.* 1971;22(1):23-31
- Rayburn A.L., Gill B.S. Isolation of a D-genome specific repeated DNA sequence from *Aegilops squarrosa*. *Plant Mol. Biol. Rep.* 1986;4(2):102-109. DOI 10.1007/BF02732107

- Salina E., Börner A., Leonova I., Korzun V., Laikova L., Maystrenko O., Röder M.S. Microsatellite mapping of the induced sphaerococoid mutation genes in *Triticum aestivum*. *Theor. Appl. Genet.* 2000;100:686-689. DOI 10.1007/s001220051340
- Salina E.A., Lim Y.K., Badaeva E.D., Shcherban A.B., Adonina I.G., Amosova A.V., Samatadze T.E., Vatolina T.Yu., Zoshchuk S.A., Leitch A.A. Phylogenetic reconstruction of *Aegilops* section *Sitopsis* and the evolution of tandem repeats in the diploids and derived wheat polyploids. *Genome.* 2006;49(8):1023-1035. DOI 10.1139/G06-050
- Schneider A., Linc G., Molnar-Lang M. Fluorescence *in situ* hybridization polymorphism using two repetitive DNA clones in different cultivars of wheat. *Plant Breed.* 2003;122(5):396-400. DOI 10.1046/j.1439-0523.2003.00891.x
- Schubert I., Shi F., Fuchs J., Endo T.R. An efficient screening for terminal deletions and translocations of barley chromosomes added to common wheat. *Plant J.* 1998;14(4):489-495
- Shcherban A.B., Emtseva M.V., Efremova T.T. Molecular genetic characterization of vernalization genes *Vrn-A1*, *Vrn-B1* and *Vrn-D1* in spring wheat germplasm from Russia and adjacent regions. *Cereal Res. Commun.* 2012;40(3):425-435. DOI 10.1556/CRC.40.2012.3.4
- van Ginkel M., Ogbonnaya F. Novel genetic diversity from synthetic wheats in breeding cultivars for changing production conditions. *Field Crop Res.* 2007;104(1-3):86-94. DOI 10.1016/j.fcr.2007.02.005
- Yan L., Helguera M., Kato K., Fukuyama S., Sherman J., Dubcovsky J. Allelic variation at the *VRN-1* promoter in polyploidy wheat. *Theor. Appl. Genet.* 2004;109(8):1677-1686. DOI 10.1007/s00122-004-1796-4
- Zhang H.K., Bian Y., Gou X.W., Zhu B., Xu C.M., Qi B., Li N., Rustgi S., Zhou H., Han F.P., Jiang J.M., Wettstein D.V., Liu B. Persistent whole-chromosome aneuploidy is generally associated with nascent allohexaploid wheat. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2013;110(9):3447-3452. DOI 10.1073/pnas.1300153110

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 31.05.2023. После доработки 19.07.2023. Принята к публикации 20.07.2023.