

Перевод на английский язык <https://vavilov.elpub.ru/jour>

Влияние генов *NAM-1* на содержание белка в зерне и показатели продуктивности у линий мягкой пшеницы с интрогрессиями чужеродного генетического материала в условиях Беларуси

О.А. Орловская , С.И. Вакула, К.К. Яцевич, Л.В. Хотылева, А.В. Кильчевский

Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь
 O.Orlovskaya@igc.by

Аннотация. Современные сорта мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), селекция которых велась в основном на увеличение продуктивности, часто имеют невысокое качество зерна. Обнаружение у сородичей пшеницы аллелей генов *NAM-1*, ассоциированных с высоким содержанием белка, увеличило значимость отдаленной гибридизации для повышения питательной ценности зерна *T. aestivum* L. Целью настоящей работы были изучение аллельного состава генов *NAM-A1* и *NAM-B1* у интрогрессивных линий пшеницы и их родительских форм и оценка эффекта различных вариантов генов *NAM-1* на содержание белка в зерне и признаки продуктивности пшеницы в полевых условиях Беларуси. Исследовали родительские сорта яровой мягкой пшеницы, образцы тетраплоидных и гексаплоидных видов рода *Triticum*, а также 22 интрогрессивные линии, полученные с их участием (вегетационный период 2017–2021 гг.). Впервые установлены и зарегистрированы в международной молекулярной базе данных GenBank полноразмерные нуклеотидные последовательности гена *NAM-A1* образцов *T. dicoccoides* k-5199, *T. dicoccum* k-45926, *T. kiharae*, *T. spelta* k-1731. В исследуемой выборке выявлено шесть комбинаций аллелей *NAM-A1/B1*, частоты встречаемости которых варьировали от 40 до 3 %. Совместный вклад генов *NAM-A1* и *NAM-B1* в изменчивость хозяйственно важных признаков пшеницы составил от 8–10 % (масса зерна с растения и масса 1000 зерен) до 72 % (накопление белка в зерне). Для большинства изученных признаков доля изменчивости, обусловленная погодными условиями, была невелика (1.57–18.48 %). Показано, что наличие функционального аллеля *NAM-B1* обеспечивает высокий уровень накопления белка в зерне независимо от погодных условий и при этом не приводит к существенному снижению массы 1000 зерен. Высокие показатели продуктивности и уровня накопления белка в зерне установлены для генотипов, сочетающих гаплотип *NAM-A1d* и функциональный аллель *NAM-B1*. Полученные результаты свидетельствуют об эффективности интрогрессии функционального аллеля гена *NAM-B1* от видов-сородичей для повышения питательной ценности мягкой пшеницы.

Ключевые слова: мягкая пшеница; сородичи пшеницы; интрогрессивные линии пшеницы; гены *NAM-1*; содержание белка в зерне; продуктивность.

Для цитирования: Орловская О.А., Вакула С.И., Яцевич К.К., Хотылева Л.В., Кильчевский А.В. Влияние генов *NAM-1* на содержание белка в зерне и показатели продуктивности у линий мягкой пшеницы с интрогрессиями чужеродного генетического материала в условиях Беларуси. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2023;27(3):197-206. DOI 10.18699/VJGB-23-26

Effect of *NAM-1* genes on the protein content in grain and productivity indices in common wheat lines with foreign genetic material introgressions in the conditions of Belarus

О.А. Orlovskaya , S.I. Vakula, K.K. Yatsevich, L.V. Khotyleva, A.V. Kilchevsky

Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus
 O.Orlovskaya@igc.by

Abstract. Modern varieties of common wheat (*Triticum aestivum* L.) bred mainly for high productivity are often of low grain quality. The identification of *NAM-1* alleles associated with high grain protein content in wheat relatives has enhanced the significance of distant hybridization for the nutritional value of *T. aestivum* L. grain. In this work we aimed to study the allelic polymorphism of the *NAM-A1* and *NAM-B1* genes in wheat introgression lines and their parental forms and evaluate the effects of various *NAM-1* variants on the grain protein content and productivity traits in the field conditions of Belarus. We studied parental varieties of spring common wheat, the accessions of tetraploid and hexaploid species of the genus *Triticum* and 22 introgression lines obtained using them (2017–2021 vegetation periods). Full-length *NAM-A1* nucleotide sequences of *T. dicoccoides* k-5199, *T. dicoccum* k-45926, *T. kiharae*, and *T. spelta* k-1731 accessions

were established and registered with the international molecular database GenBank. Six combinations of *NAM-A1/B1* alleles were identified in the accessions studied and their frequency of occurrence varied from 40 to 3 %. The cumulative contribution of *NAM-A1* and *NAM-B1* genes to the variability of economically important wheat traits ranged from 8–10 % (grain weight per plant and thousand kernel weight) to up to 72 % (grain protein content). For most of the traits studied, the proportion of variability determined by weather conditions was small (1.57–18.48 %). It was shown that, regardless of weather conditions, the presence of a functional *NAM-B1* allele ensures a high level of grain protein content; at the same time, it does not significantly decrease thousand kernel weight. The genotypes combining the *NAM-A1d* haplotype and a functional *NAM-B1* allele demonstrated high levels of productivity and grain protein content. The results obtained demonstrate the effective introgression of a functional *NAM-B1* allele of related species increasing the nutritional value of common wheat.

Key words: common wheat; wheat relatives; wheat introgressive lines; *NAM-1* genes; grain protein content; productivity.

For citation: Orlovskaya O.A., Vakula S.I., Yatsevich K.K., Khotyleva L.V., Kilchevsky A.V. Effect of *NAM-1* genes on the protein content in grain and productivity indices in common wheat lines with foreign genetic material introgressions in the conditions of Belarus. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2023;27(3): 197-206. DOI 10.18699/VJGB-23-26

Введение

Мягкая пшеница (*Triticum aestivum* L.) – важная сельскохозяйственная культура, играющая ключевую роль в обеспечении продовольствием населения во всем мире. Одним из приоритетных направлений селекции пшеницы является повышение качества зерна, которое в первую очередь определяется общим содержанием белка (Brevis et al., 2010). Сложная полигенная природа признака «содержание белка в зерне», изменчивость его под действием внешних факторов, а также отрицательная корреляция между содержанием белка и продуктивностью усложняют селекцию (Iqbal et al., 2016). Кроме того, низкое генетическое разнообразие современных сортов по признаку ограничивает их использование в селекционных программах по улучшению питательной ценности пшеницы. Многие родственные виды *T. aestivum* характеризуются более высоким количеством белка в зерне по сравнению с культивируемыми сортами (Peleg et al., 2008; Kumar et al., 2019).

Новые возможности для селекции на повышение суммарного белка в зерне появились с обнаружением у дикорастущей полбы *T. dicoccoides* (геном AABB) локуса *Gpc-B1*, ассоциированного с содержанием белка. Локус был картирован в коротком плече хромосомы 6B, а при детальном уточнении границ участка его локализации была найдена последовательность, идентифицированная как ген *NAM-B1*, принадлежащий к семейству NAC-факторов транскрипции (Uauy et al., 2006a). Гены данного семейства участвуют в регуляции различных программ развития растений, контроле защитных реакций на биотические и абиотические стрессоры, играют важную роль в процессе старения растений (Puranik et al., 2012; Zhao et al., 2015). В дополнение к гену *NAM-B1* мягкая пшеница имеет также гомеологичные гены *NAM-A1* и *NAM-D1* в хромосомах 6A и 6D (Avni et al., 2014).

У дикорастущей полбы обнаружен функциональный аллель *NAM-B1* (аллель дикого типа), обеспечивающий высокое содержание белка в зерне. Этот аллель включает три экзона и два интрона и кодирует белок из 407 аминокислотных остатков, который имеет консервативный N-концевой участок, или NAC-домен с пятью субдоменами, и сильно изменчивый C-концевой участок активации транскрипции (Waters et al., 2009). Функциональный аллель *NAM-B1* не встречается у большинства современных

сортов пшеницы. Сорта, как правило, имеют инсерцию 1 п. н. в первом экзоне, приводящую к сдвигу рамки считывания (мутантный аллель), или делецию гена (частичную или полную), и как следствие, – неактивный белок или его отсутствие (Uauy et al., 2006b). Так, изучение 218 сортов пшеницы из пяти основных регионов Китая не выявило ни одного сорта с функциональным аллелем гена *NAM-B1* (Chen et al., 2017). Молекулярная характеристика генов *NAM-1* австралийских сортов мягкой пшеницы показала наличие дикого аллеля гена *NAM-B1* только у 2 сортов из 51 (Yang et al., 2018).

Установлено, что ген *NAM-A1*, как и *NAM-B1*, состоит из трех экзонов, обладает типичными характеристиками генов NAC-семейства и участвует в регуляции тех же процессов, что и *NAM-B1*. В результате анализа связи однонуклеотидных вариантов (SNP) гена *NAM-A1* с ремобилизацией азота из листьев и накоплением белка в зерне обнаружены две функциональные однонуклеотидные замены: в позиции 722 (T/C) и в позиции 1509 (A/del). На основании полученных данных предложена классификация гаплотипов гена *NAM-A1*: *NAM-A1a* (722C и 1509A), *NAM-A1b* (722C и 1509del), *NAM-A1c* (722T и 1509A), *NAM-A1d* (722T и 1509del) (Cormier et al., 2015).

Отсутствие у современных сортов пшеницы функционального аллеля *NAM-B1*, обеспечивающего высокое содержание белка в зерне в различных экологических условиях, упрочило позиции отдаленной гибридизации для повышения питательной ценности зерна пшеницы. С целью обогащения и улучшения генофонда мягкой пшеницы в скрещиваниях с сортами *T. aestivum* L. нами были привлечены образцы видов рода *Triticum* (*T. dicoccoides*, *T. dicoccum*, *T. durum*, *T. spelta*, *T. kiharae*). Проведенное ранее изучение генетического разнообразия коллекции интрогрессивных линий пшеницы с помощью методов С-бэндинга и SSR-анализа показало, что в геноме гибридных линий чужеродный генетический материал представлен в виде как небольших участков, так и целых хромосом (Orlovskaya et al., 2016, 2020).

Цель настоящей работы – изучение аллельного состава генов *NAM-A1* и *NAM-B1* у интрогрессивных линий пшеницы и их родительских форм и оценка эффекта различных вариантов генов *NAM-1* на содержание белка в зерне и признаки продуктивности пшеницы в полевых условиях Беларуси.

Материалы и методы

В исследование включены пять сортов яровой мягкой пшеницы (Рассвет, Саратовская 29, Фестивальная, Белорусская 80, Pitic S62), тетраплоидные *T. dicoccoides*, *T. dicoccoides* к-5199, *T. dicoccum* к-45926, *T. durum* и гексаплоидные *T. spelta* к-1731, *T. kiharae* образцы видов рода *Triticum*, а также полученные нами 22 интрогрессивные линии (Приложение 1)¹. Образцы чужеродных доноров представлены из коллекции ВИР, информация о родословных отдельных образцов не сохранилась (номера по каталогу ВИР не указаны).

Растения выращивали на экспериментальных полях Института генетики и цитологии НАН Беларуси в 2017–2021 гг. (г. Минск) на дерново-подзолистой супесчаной почве. Характеристика погодных условий в регионе исследования в 2017–2021 гг. приведена в Приложении 2. Данные о среднесуточных температурах и количестве выпавших осадков (<http://tr5.by>) использованы для расчета суммы активных температур (САТ) и гидротермического коэффициента Селянинова (ГТК) (Мамонтова, Хромов, 1974). При уборке проводили учет следующих признаков: «высота растения», «количество продуктивных побегов на растение», «длина главного колоса», «число колосков и зерен главного колоса», «масса зерна с колоса и растения», а также «масса 1000 зерен». Для оценки признаков случайным образом отбирали 15 растений каждого генотипа.

Для секвенирования последовательностей полногеномного гена *NAM-A1* и первого экзона *NAM-B1* использовали специфичные праймеры, разработанные R. Yang с коллегами (2018). Реакцию секвенирования проводили с помощью набора BigDye Terminator v. 3.1 Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems, США), разделение продуктов секвенирующей реакции – на генетическом анализаторе ABI PRISM 3500 (Applied Biosystems). Выравнивание нуклеотидных последовательностей и анализ гомологии выполняли на анализаторе BLAST Национального центра биотехнологической информации США (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>). В качестве референсной последовательности был сорт Chinense Spring, который, согласно литературным данным, имеет гаплотип *NAM-A1a* (722С и 1509А) и мутантный аллель *NAM-B1* (инсерция Т в положении +11) (Yang et al., 2018).

Общее содержание белка в зерне пшеницы определяли в соответствии с ГОСТ 10846-91 (2009) в Центральной республиканской лаборатории ГУ «Государственная инспекция по испытанию и охране сортов растений» (г. Минск, РБ). Сущность метода заключается в минерализации органического вещества серной кислотой в присутствии катализатора с образованием сульфата аммония, разрушении сульфата аммония щелочью с выделением аммиака, отгонке аммиака водяным паром в раствор серной или борной кислоты с последующим титрованием.

Результаты эксперимента обобщены с применением методов описательной статистики, двухфакторного дисперсионного, регрессионного, корреляционного анализов (использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена). Статистические процедуры реализованы в программных пакетах Statistica 10.0, MS Excel, веб-при-

ложении SNPstats. Количественный вклад отдельных факторов дисперсионного анализа рассчитывали на основе отношения абсолютной дисперсии фактора к сумме дисперсий этого и остальных факторов, согласно формулам, приведенным в работе (Рокицкий, 1973).

Результаты

Аллельный полиморфизм генов *NAM-A1* и *NAM-B1*

Проведено секвенирование полногеномного гена *NAM-A1* у родительских сортов и образцов видов рода *Triticum*, у 22 интрогрессивных линий, созданных на их основе. Среди родительских форм гаплотип *NAM-A1a* выявлен у сортов: Фестивальная, Рассвет, образцов: *T. durum*, *T. dicoccum* к-45926, *T. dicoccoides* к-5199, *T. dicoccoides*, *T. kiharae*; гаплотип *NAM-A1c* – у *T. spelta* к-1731; гаплотип *NAM-A1d* – у сортов: Саратовская 29, Белорусская 80, Pitic S62 (Приложение 3).

Сравнительный анализ показал, что нуклеотидные последовательности *NAM-A1a* образцов *T. dicoccoides* к-5199, *T. dicoccoides*, *T. kiharae* не имели 100 % сходства с последовательностью *NAM-A1a T. aestivum* (MH160778) из базы данных GeneBank. Последовательности образцов дикой полбы (*T. dicoccoides* к-5199 и *T. dicoccoides*), исследованные нами, отличались от *NAM-A1a T. aestivum* (MH160778) двумя SNP: позиции 538 п. н. (С/А в экзоне 2) и 1139 п. н. (G/Т в экзоне 3) (уровень идентичности – 99.9 %). SNP 1139 п. н. G/Т приводит к замене аспарагина на тирозин в аминокислотной последовательности белка. Уровень сходства *NAM-A1a* образца *T. kiharae* с *NAM-A1a* из базы данных GeneBank (MH160778) составил 99.7 % и отличался от него по шести SNP: в позициях: 189 п. н. (С/А в экзоне 1), 306 п. н. (А/С в интроне 1), 1133 п. н. (G/А в экзоне 3), 1271 п. н. (G/Т в экзоне 3), 1414 п. н. (С/Г в экзоне 3), 1491 п. н. (G/С в экзоне 3). Три из данных SNP вызывают изменения в аминокислотной последовательности белка: замена G/А в позиции 1133 п. н. приводит к замене аланина на треонин; G/Т в позиции 1271 п. н. – аланина на серин; G/С в позиции 1491 п. н. – глицина на аланин.

Последовательность гена *NAM-A1* образцов *T. dicoccum* к-45926 и *T. durum* была полностью гомологична последовательности аллеля *NAM-A1a* (GenBank: MH160778), последовательность *NAM-A1* образца *T. spelta* к-1731 соответствовала аллелю *NAM-A1c* (GenBank: MH160777). Нуклеотидные последовательности гена *NAM-A1* образцов *T. kiharae*, *T. spelta* к-1731, *T. dicoccoides* к-5199 и *T. dicoccum* к-45926, впервые описанные нами, были зарегистрированы в международной базе данных GenBank (коды доступа MT572492, MT920417, MW384855, MW384856 соответственно).

Анализ данных секвенирования гена *NAM-A1* у интрогрессивных линий пшеницы показал, что 54.6 % линий имели гаплотип *NAM-A1d*; 36.4 % – гаплотип *NAM-A1a* и 9.1 % – гаплотип *NAM-A1c*. Можно отметить, что линии пшеницы с чужеродным генетическим материалом, как правило, наследовали ген *NAM-A1* исходного сорта пшеницы, но был и ряд исключений (см. Приложение 3). Гаплотип, соответствующий родственному виду, был выявлен у линий, созданных с участием *T. spelta* к-1731 (линии 1-8 и 7, *NAM-A1c*), у линии 226-7 *T. durum* × Бело-

¹ Приложения 1–8 см. по адресу:

<https://vavilovj-icg.ru/download/pict-2023-27/appx8.pdf>

русская 80 (*NAM-A1a*), у линии 20-1 *T. kiharae* × Саратовская 29 (*NAM-A1a*). Среди линий, созданных с участием *T. dicoccoides*, только линии 11-1 и 13-3, полученные в результате скрещивания с сортом Фестивальная, унаследовали ген *NAM-A1* от дикой полбы с характерными только для нее SNP в позициях 538 и 1139 п. н. нуклеотидной последовательности гена.

Анализ секвенирования первого экзона гена *NAM-B1* у изученных генотипов выявил функциональный аллель (*F*) у всех образцов видов-сородичей, за исключением *T. durum*, для которого не определили аллель *NAM-B1*, и у 5 из 22 интрогрессивных линий пшеницы (13-3 и 15-7-1 от комбинации *T. dicoccoides* × Фестивальная, 19 и 25-2 – от *T. kiharae* × Саратовская 29 и линии 7 из комбинации *T. spelta* к-1731 × Саратовская 29). Все родительские сорта и большая часть линий пшеницы с чужеродным генетическим материалом (77.3 %) имели мутантный аллель (*NF*).

Эффекты генов *NAM-A1* и *NAM-B1* на признаки продуктивности и содержание белка в зерне

Результаты генотипирования интрогрессивных линий мягкой пшеницы и родительских форм по генам *NAM-A1* и *NAM-B1* сопоставлены с результатами полевых испытаний и данными содержания белка в зерне 2017–2021 гг. Оценку влияния генотипа, факторов внешней среды и их взаимодействия определяли с использованием общей линейной модели (GLM) двухфакторного дисперсионного анализа (Приложение 4).

Сочетание генов *NAM-A1/B1* оказывает статистически значимое влияние на проявление всех девяти изученных признаков, при этом превышая вклад отдельных генов *NAM-1* в изменчивость содержания белка, высоты растения, числа колосков в колосе и массы 1000 зерен (см. Приложения 4 и 5). Ген *NAM-B1* не оказывает значимого влияния на длину колоса пшеницы, вместе с тем *NAM-A1* или комбинация *NAM-A1/B1* обуславливают более половины наблюдаемой вариации признака.

Наибольшая длина главного колоса относительно других гаплотипов характерна для растений *NAM-A1c* (в среднем за пять лет наблюдений – 9.86 см), а при сочетании *c/F* этот показатель возрастает до 10.87 см. Эффект, оказываемый аллельными вариантами *NAM-B1* на изменчивость числа и массы зерен в колосе, почти в три раза превышает влияние гаплотипов *NAM-A1* и в полтора раза – сочетание *NAM-A1* и *NAM-B1*.

Продуктивность колоса в группе образцов с диким аллелем *NAM-B1* была значимо меньше, чем у генотипов с мутантным аллелем (Приложение 6). Так, в колосе большинства генотипов с функциональным аллелем (7 из 10) число зерен не достигало 30 шт., в то время как в колосе генотипов с мутантным аллелем, как правило, формировалось 30–40 зерен. Можно отметить значительную вариацию признаков продуктивности колоса в обеих группах. Отдельные генотипы с функциональным аллелем характеризовались высокими показателями по данным признакам (линии 19 *T. kiharae* × Саратовская 29 (*d/F*) и 15-7-1 *T. dicoccoides* × Фестивальная (*a/F*)). Во всех трех вариантах дисперсионного анализа масса 1000 зерен и масса зерен с растения – это признаки с низким (до 10 %) вкладом генетических вариантов, при этом масса зе-

рен с растения статистически не зависима от гаплотипа *NAM-A1*, а масса 1000 зерен – от аллеля *NAM-B1*. Изменчивость содержания белка в зерне на 70 % связана с полиморфизмом *NAM-B1*, вклад *NAM-A1* существенно ниже и немного возрастает при рассмотрении сочетания аллелей двух генов (см. Приложение 5). Так, в среднем за четыре года в группах с различными гаплотипами *NAM-A1* наибольшее содержание белка в зерне у генотипов *NAM-A1a* (21.53 %), в группах с различными вариантами *NAM-B1* – с функциональным аллелем *NAM-B1* (22.53 %), а при сочетании *a/F* отмечено максимальное количество белка (23.72 %) (Приложение 7).

Силу и направление связи между различными аллелями генов *NAM-1* и хозяйственно важными признаками оценили с использованием коэффициента корреляции Спирмена (табл. 1).

Выявлена связь средней силы между содержанием белка в зерне и аллельными вариантами генов *NAM-1*, однако статистически достоверна только корреляция с *NAM-B1* (см. табл. 1). Кроме того, значимая зависимость установлена между аллельными вариантами *NAM-B1* и продуктивной кустистостью, числом и массой зерен с колоса. Гаплотип *NAM-A1* достоверно коррелировал только с длиной колоса, с остальными признаками продуктивности ассоциация была слабая. Результаты дисперсионного анализа также показали, что аллельные варианты *NAM-B1* оказывают значительно большее влияние на изменчивость содержания белка в зерне, числа и массы зерен в колосе, продуктивной кустистости, чем варианты *NAM-A1* (см. Приложение 5). Необходимо отметить, что дисперсионный и корреляционный анализы установили невысокую связь генов *NAM-1* с признаками «высота растения», «число колосков в колосе», «масса зерен с растения» и «масса 1000 зерен» (см. Приложение 5, табл. 1).

Всего в исследуемой выборке выявлено шесть комбинаций аллелей *NAM-A1/B1*, частоты встречаемости которых варьировали от 40 (*d/NF*) до 3 % (*c/NF*). Некоторые комбинации аллелей представлены небольшим количеством образцов (*d/F*, *c/F* и *c/NF*), поэтому нельзя говорить о достоверно значимом различии признаков у растений с данными комбинациями аллелей.

Средние значения признаков продуктивности генотипов, несущих различные комбинации генов *NAM-A1/B1*, представлены в табл. 2.

Генотипы, сочетающие разные гаплотипы *NAM-A1* с функциональным аллелем *NAM-B1*, имели большую высоту и продуктивную кустистость, чем растения с соответствующим гаплотипом в сочетании с мутантным аллелем *NAM-B1* (см. табл. 2). Максимальные значения для этих признаков характерны для образцов *c/F* – 93.36 см и 3.86 шт. Для признаков продуктивности колоса обнаружена противоположная тенденция: все три гаплотипа *NAM-A1* в комбинации с функциональным аллелем *NAM-B1* обладали низкими числом и массой зерен с колоса (см. табл. 2). Образцы с гаплотипами *NAM-A1a* и *NAM-A1c* в сочетании с функциональным аллелем показали незначительное уменьшение массы 1000 зерен по сравнению с генотипами, сочетающими *NAM-A1a* и *NAM-A1c* с мутантным аллелем (см. табл. 2).

Таблица 1. Коэффициенты корреляции Спирмена между аллельными вариантами генов *NAM-A1*, *NAM-B1* и хозяйственно важными признаками исследованных генотипов пшеницы

Ген	ВР	ПК	ДК	ЧКК	ЧЗК	МЗК	МЗР	M1000	Содержание белка
<i>NAM-A1</i>	-0.008	0.01	0.67*	0.06	0.08	0.22	0.20	0.18	0.43*
<i>NAM-B1</i>	0.33	0.53*	-0.16	-0.17	-0.44*	-0.47*	-0.18	-0.06	0.57*

Примечание. ВР – высота растения; ПК – продуктивная кустистость; ДК – длина колоса; ЧКК – число колосков в колосе; ЧЗК – число зерен с колоса; МЗК – масса зерен с колоса; МЗР – масса зерен с растения; M1000 – масса 1000 зерен. * Достоверно при $p < 0.05$.

Таблица 2. Средние значения признаков продуктивности и содержания белка в зерне в группах генотипов пшеницы с различными сочетаниями аллелей генов *NAM-1*

Аллели генов <i>NAM-1</i>	<i>d/NF</i>	<i>a/NF</i>	<i>a/F</i>	<i>d/F</i>	<i>c/F</i>	<i>c/NF</i>
Частота встречаемости комбинации аллелей, %	40	30	13	7	7	3
Признак	X ± SEM					
Высота растения, см	76.19 ± 0.42	78.79 ± 0.57	79.93 ± 0.77	81.73 ± 1.09	93.36 ± 1.54	82.95 ± 1.79
Продуктивная кустистость, шт.	2.89 ± 0.02	2.97 ± 0.03	3.29 ± 0.05	3.11 ± 0.07	3.86 ± 0.09	3.19 ± 0.09
Длина колоса, см	9.46 ± 0.04	8.82 ± 0.05	7.87 ± 0.10	10.17 ± 0.09	10.75 ± 0.19	8.78 ± 0.11
Число колосков в колосе, шт.	16.41 ± 0.08	16.27 ± 0.09	15.86 ± 0.20	14.58 ± 0.22	15.13 ± 0.20	15.32 ± 0.25
Число зерен с колоса, шт.	35.55 ± 0.30	35.36 ± 0.37	28.60 ± 0.60	28.78 ± 0.78	27.84 ± 0.55	28.83 ± 0.64
Масса зерна с колоса, г	1.43 ± 0.01	1.38 ± 0.02	1.07 ± 0.03	1.27 ± 0.04	1.08 ± 0.03	1.18 ± 0.03
Масса зерна с растения, г	3.12 ± 0.04	3.14 ± 0.05	2.64 ± 0.07	2.93 ± 0.10	3.11 ± 0.10	2.90 ± 0.10
Масса 1000 зерен, г	40.20 ± 0.23	38.93 ± 0.33	37.97 ± 0.50	44.34 ± 0.54	39.12 ± 0.68	41.25 ± 0.72
Содержание белка, %	19.14 ± 0.2	20.07 ± 0.2	23.72 ± 0.3	21.37 ± 0.4	19.77 ± 0.2	19.14 ± 0.4

Примечание. *a* – гаплотип *NAM-A1a*; *d* – гаплотип *NAM-A1d*; *c* – гаплотип *NAM-A1c*; *F* – функциональный аллель *NAM-B1*; *NF* – мутантный аллель *NAM-B1*; X – средние значения признаков; SEM – стандартная ошибка среднего.

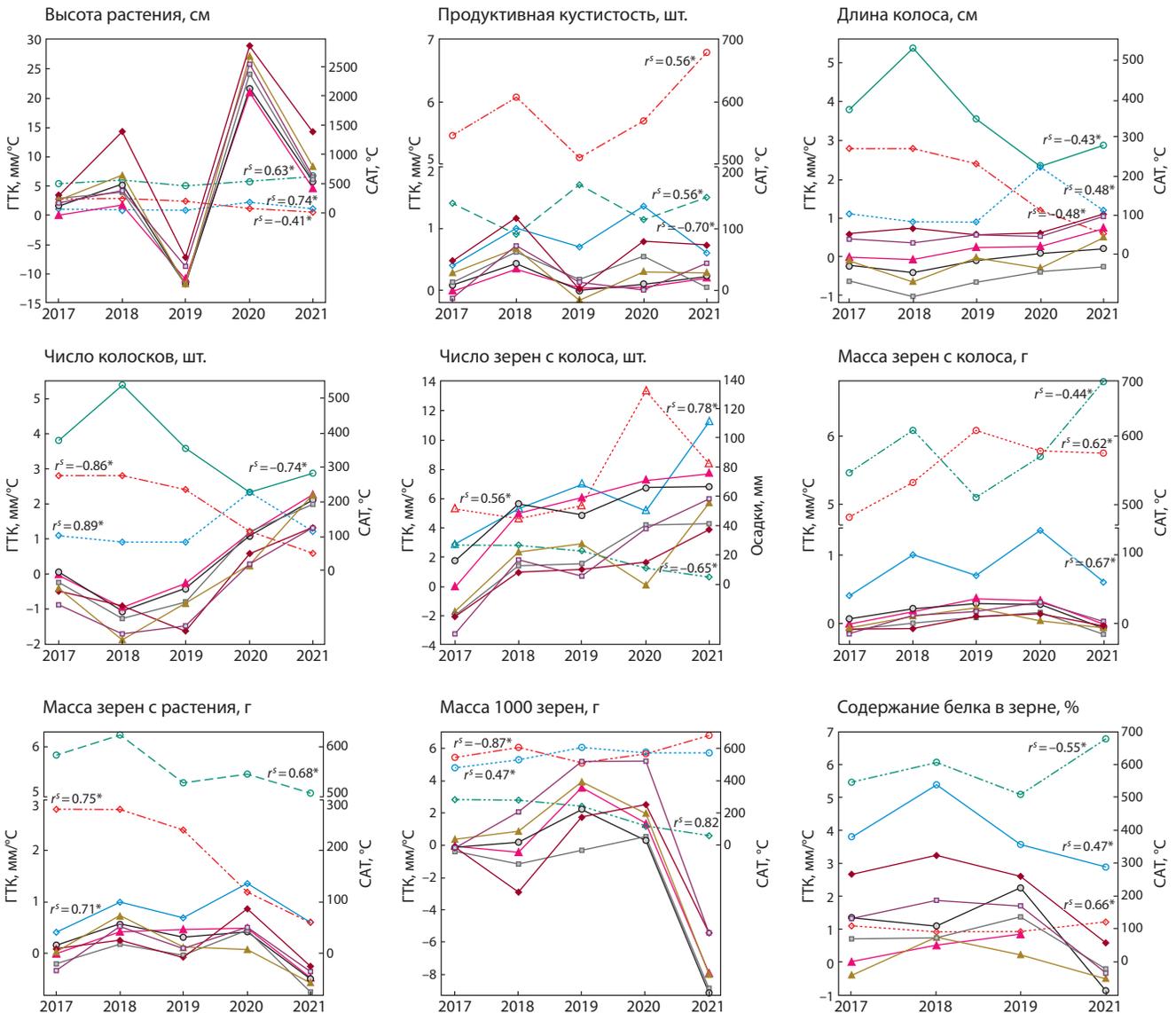
Для растений с гаплотипом *NAM-A1d* выявлено увеличение массы 1000 зерен в группе с функциональным аллелем (40.20 г – у генотипов *d/NF* и 44.34 г – у генотипов *d/F*). Можно отметить, что образцы с *NAM-A1a* были наименее продуктивны по данному признаку как в группе с функциональным (37.97 г), так и нефункциональным (38.93 г) аллелями *NAM-B1*. Наличие мутантного аллеля гена *NAM-B1* приводит к снижению содержания белка относительно комбинации с функциональным аллелем: для гаплотипов *NAM-A1a* в среднем на 3.6 %, *NAM-A1d* – на 2.3 % и *NAM-A1c* – на 0.6 % (в последнем случае снижение статистически незначимо). Максимальное количество белка в зерне накапливали линии с комбинацией *a/F*, минимальное – с *d/NF* и *c/NF* (см. табл. 2).

Роль погодных условий и их взаимодействие с генами *NAM-1* в изменчивости признаков продуктивности и содержания белка в зерне

Вне зависимости от используемой модели (*NAM-A1* × погодные условия, *NAM-B1* × погодные условия, *NAM-A1/B1* × погодные условия) для всех признаков показана высокая статистическая значимость вклада погодных условий года выращивания, однако преобладание роли данного фактора (> 50.0 %) установлено только в изменчивости признаков «высота растения» и «число колосков в колосе». Взаимодействие комбинации генов *NAM-A1/B1* с погодными

условиями значимо влияет на все показатели продуктивности пшеницы. Особенно высок вклад этого взаимодействия (более 60 %) в дисперсию признаков «масса зерен с колоса и растения», «масса 1000 зерен», «продуктивная кустистость». Влияние взаимодействия «*NAM-B1* × погодные условия» на признаки продуктивности ниже, чем вклад других факторов (см. Приложение 5). Исключение составляет только признак «число колосков в колосе», для которого вклад генотип-средовых взаимодействий с *NAM-B1* составляет 3 %, а с *NAM-A1* он статистически незначим ($p = 0.23$). Следует отметить отсутствие влияния на содержание белка в зерне взаимодействия погодных условий и всех трех генетических факторов.

Различные генотипы могут по-разному реагировать на изменения условий среды. Аддитивность эффектов *NAM-A1/B1* и погодных условий на проявление исследованных признаков тестировали с использованием лог-аддитивной модели линейной регрессии веб-приложения SNPstats. Для признаков «высота растения», «продуктивная кустистость», «число колосков в колосе», «масса зерен с растения» и «масса 1000 зерен» установлено взаимное усиление эффектов двух факторов: аллелей *NAM-A1/B1* и погодных условий. Аддитивное взаимодействие генотипа *NAM-A1/B1* и среды статистически незначимо для изменчивости признаков «длина колоса», «число и масса зерен в главном колосе», «содержание белка».



Разница между значениями признаков продуктивности растений пшеницы с комбинацией *d/NF* в 2017 г. и другими сочетаниями аллелей *NAM-A1/B1* в погодно-климатических условиях Беларуси 2017–2021 гг. (результаты SNPStats).

Комбинации аллелей *NAM-A1/B1*: ▲ *d/NF*; ○ *a/NF*; □ *a/F*; ◆ *c/F*; ▲ *d/F*; □ *c/NF*. Условия среды: ○ CAT – сумма активных температур; ◇ ГТК – гидротермический коэффициент; Δ – осадки. Этапы вегетации: — май; июнь; июль; ---- август; r^2 – коэффициент ранговой корреляции Спирмена, который показывает силу связи между признаками продуктивности и метеопараметрами.

Изменчивость изученных признаков генотипов, не-сущих различные комбинации *NAM-A1/B1*, в условиях различных вегетационных периодов оценивали относительно продуктивности растений с аллелями *d/NF* в 2017 г. (см. рисунок). Для поиска метеорологических факторов, обуславливающих генотип-средовое взаимодействие, проведены: 1) сравнительный анализ ранжирования аллельных комбинаций в условиях 2017–2021 гг., 2) корреляционный анализ признаков продуктивности с метеопараметрами (см. рисунок).

Анализ коэффициентов корреляции показал, что на большинство изученных признаков продуктивности значительное влияние оказали погодные условия во время фазы налива зерна – ГТК и САТ в июле. Наиболее тесная ассоциация выявлена между ГТК июля и высотой растения, числом колосков

в колосе, массой зерен с растения и массой 1000 зерен (см. рисунок). Во время фазы налива зерна происходит усиленное поступление минеральных и органических веществ в зерно пшеницы; неблагоприятные условия в данный период существенно ухудшают его качество и снижают урожайность. Оптимальный ГТК июля (1.2) характерен для сезона 2020 г. В июле 2021 г. наблюдались превышение температуры воздуха и недостаток осадков по сравнению с нормой, и ГТК составил всего 0.4, что характеризует данный период как засушливый. В остальные годы ГТК июля значительно превышал норму и составил 2.8, 2.8 и 2.4 в 2017, 2018, 2019 гг. соответственно.

Можно отметить, что температура воздуха и количество осадков на протяжении всего вегетационного периода 2020 г. были близки к климатической норме, что способ-

ствовало максимальной реализации продуктивности пшеницы (Приложение 8). Условия 2021 г. (переувлажнение почв в мае, засуха в июле, дожди в период созревания зерна и уборки урожая) привели к существенному снижению показателей урожайности исследуемых генотипов (см. Приложение 8).

«Высота растений» – признак с аддитивным вкладом генов *NAM-1* и погодных условий. Наличие функционального аллеля *NAM-B1* и гаплотипа *NAM-A1c* ассоциировано со статистически значимым ростом соломины. Обеспеченное увлажнение почв ($ГТК > 1$) на протяжении периода «выход в трубку–цветение» стимулирует рост растений, в то же время избыточное количество осадков в июле–августе, напротив, негативно сказывается на высоте растения. Например, средняя высота растений пшеницы в 2019 г. (холодное и сырое лето) снизилась на 10.6–14.5 см, а в близком к климатической норме 2020 г. – увеличилась более чем на 20 см относительно значений 2017 г. Растения с гаплотипом *NAM-A1c* наименее чувствительны к средовым факторам, снижающим высоту стебля, при этом в благоприятных условиях прирост соломины достигает 10–25 см.

Показано, что на продуктивную кустистость растений отрицательно влияют переувлажнение почвы и большое количество осадков в августе, что связано с торможением процессов вторичного роста, полеганием и нарушением газообмена корневой системы. С признаком положительно коррелируют $ГТК$ мая и $САТ$ июля, т.е. отсутствие заморозков и засухи на стадии кущения и высокая интенсивность фотосинтеза на этапе созревания. Растения с функциональным аллелем *NAM-B1* в благоприятных условиях формируют больше стеблей и значимо снижают кустистость в условиях весенней засухи (см. рисунок).

Модели SNPstats не смогли объяснить изменчивость длины колоса ни аддитивным взаимодействием аллелей *NAM-A1* и *NAM-B1*, ни взаимодействием генетических факторов и условий выращивания. Как на длину колоса, так и на число колосков в колосе оказывают влияние условия, наблюдаемые на этапах выхода в трубку и колошения, а именно – $ГТК$ в июне. Теплые и засушливые условия мая–июня 2018 г. сопровождалось снижением средней длины и числа колосков в колосе, однако для позднеспелых генотипов с комбинацией *c/F* снижение числа колосков оказалось статистически незначимым. Число и масса зерен в главном колосе зависят от оптимальных условий увлажнения на этапе всходов и кущения, суммы активных температур на этапе колошения и цветения. Невысокий урожай главного колоса отмечен в условиях 2017 и 2021 гг., характеризовавшихся низким гидротермическим коэффициентом мая, но различавшихся по температурному и гидрологическому режиму на последующих этапах вегетационного периода. В 2021 г. отмечено максимальное число формируемых в главном колосе зерен, в 2017 г. – минимальное (см. рисунок).

Масса зерен с растения и масса 1000 зерен – наиболее важные показатели урожайности пшеницы. При достоверной разнице средних значений признаков у растений, несущих варианты комбинации генов *NAM-A1/B1*, аддитивного влияния генетические факторы не оказывают. Вне зависимости от года выращивания комбинации гап-

лотипов *NAM-A1a* и *NAM-A1c* с функциональным вариантом *NAM-B1* ассоциированы с незначительным снижением массы 1000 зерен относительно комбинаций с нефункциональным вариантом гена. Между генотипами *d/F* и *d/NF* существенных различий по признакам семенной продуктивности не обнаружено (см. рисунок). Позднеспелые генотипы, несущие гаплотип *NAM-A1c*, дают существенный прирост массы 1000 зерен при сочетании высоких $ГТК$ в июле и августе, что наблюдалось в 2019–2020 гг. (см. рисунок).

Для формирования зерна растения пшеницы ремобилизуют азот и углеводы из флагового листа, в связи с чем содержание белка в зерне зависит от интенсивности фотосинтеза и площади фотосинтетической поверхности (Lawlor et al., 1989). Высокий $ГТК$ июня может оказывать негативное влияние на содержание белка через снижение этих параметров – низкая солнечная инсоляция вследствие высокой облачности и рост площади поражения листовой пластинки фитопатогенами в условиях высокой влажности. В неблагоприятных для общей продуктивности условиях 2021 г. растения с функциональным аллелем *NAM-B1* накапливали больше белка, чем генотипы с мутантным вариантом гена (см. рисунок).

Обсуждение

Изученные нами сорта мягкой пшеницы имели гаплотип *NAM-A1d* или *NAM-A1a*, мутантный аллель *NAM-B1*, что согласуется с данными литературы. Например, в коллекции австралийских сортов пшеницы чаще всего встречались образцы с гаплотипами *NAM-A1a* (50.1 %) и *NAM-A1d* (28 %), реже – *NAM-A1b* (1.9 %) (Yang et al., 2018). F. Cormier с коллегами (2015) в своих исследованиях выявили, что для большинства современных европейских сортов пшеницы характерен именно гаплотип *NAM-A1d*, в то время как *NAM-A1a* наиболее часто встречается у сортов с высокими хлебопекарными свойствами. Образцов пшеницы с гаплотипом *NAM-A1b* в исследованной нами коллекции не обнаружено. В работах зарубежных ученых приводятся данные о низкой частоте встречаемости этого гаплотипа. Например, в коллекции из 795 образцов пшеницы обнаружен только один образец с *NAM-A1b*. Существует предположение, что этот гаплотип появился недавно в результате рекомбинации между *NAM-A1a* и *NAM-A1d* (Cormier et al., 2015).

Наличие функциональных аллелей *NAM-B1* только у сородичей пшеницы среди исследованных нами родительских форм подтверждается данными других исследователей. Так, в работе С. Uauy с коллегами (2006b) функциональный аллель *NAM-B1* обнаружен у всех проанализированных 42 образцов *T. dicoccoides* и у 17 из 19 образцов *T. dicoccum* (Schrank) Schuebl., в то время как все 57 изученных сортов твердой пшеницы и 34 сорта мягкой пшеницы или содержали инсерцию 1 п. н., или имели делецию гена. Среди 367 образцов мягкой пшеницы стержневой коллекции INRA (Франция), отобранных из 3942 генотипов различного географического происхождения, только 5 содержали функциональные аллели *NAM-B1* (Hagenblad et al., 2012). В связи с тем, что культивируемые в настоящее время сорта, как правило, не имеют функционального аллеля *NAM-B1*, полученные

нами пять интрогрессивных линий пшеницы с данным аллелем представляют большой интерес для повышения качества зерна пшеницы.

Анализ различий средних значений количественных признаков в группах, несущих разные гаплотипы *NAM-A1*, выявил, что во все годы эксперимента растения *NAM-A1a* имели короткий колос, низкие массу зерен с растения и массу 1000 зерен, высокое содержание белка в зерне; *NAM-A1c* – максимальные высоту растения, продуктивную кустистость и длину колоса, но низкие показатели озерненности и массы семян с колоса; *NAM-A1d* – минимальные высоту растения, количество продуктивных побегов и максимальные значения признаков продуктивности колоса и растения. В ряде работ показано, что присутствие гаплотипа *NAM-A1a* связано с более коротким периодом налива зерна и более интенсивным процессом ремобилизации азота, что вызывает повышенную белковость, но снижение числа зерен в колосе и массы 1000 зерен, в то время как наличие *NAM-A1c* или *NAM-A1d* приводит к увеличению периода налива зерна, в результате которого возрастают количество поглощенного азота и урожайность пшеницы (Cormier et al., 2015; Alhabbar et al., 2018). Существует предположение, что *NAM-A1a* является функциональным вариантом гена *NAM-A1*, редко встречающегося у элитных современных сортов пшеницы, селекция которых велась главным образом на продуктивность.

Полученные нами данные о высоком уровне накопления белка в зерне у генотипов пшеницы с диким аллелем *NAM-B1* совпадают с результатами многих зарубежных ученых. Изучение серии почти изогенных линий на основе мягкой и твердой пшеницы в разных странах мира (США, Аргентина, Индия, Китай, Австралия и др.) позволило сделать вывод, что интрогрессия функционального аллеля *NAM-B1* в геном культурных пшениц обоих уровней плоидности приводит к повышению содержания белка и ключевых минералов в зерне, улучшению уборочного индекса азота, увеличению сбора белка (Tabbitta et al., 2013; Maphosa et al., 2014; Mishra et al., 2015; Kuhn et al., 2016).

На протяжении всего периода наблюдений генотипы с функциональным аллелем *NAM-B1* характеризовались большей высотой растения и продуктивной кустистостью, но более низкими показателями по признакам продуктивности колоса и растения по сравнению с генотипами, несущими нефункциональный аллель. Однако нами не обнаружено достоверного влияния аллельного состояния *NAM-B1* на массу 1000 зерен. В литературе встречаются сведения как о положительном, так и отрицательном эффекте аллеля дикого типа *NAM-B1* на основные компоненты продуктивности пшеницы (Carter et al., 2012; Maphosa et al., 2014; Kuhn et al., 2016). Значимое увеличение продуктивных стеблей у линий мягкой пшеницы с функциональным аллелем *NAM-B1*, установленное нами, показано также в работах других ученых (Tabbitta et al., 2013; Vishwakarma et al., 2016).

Известно, что на продуктивную кустистость оказывают влияние многие факторы окружающей среды, включая доступность азота (Wang, Below, 1996). Возможно, функциональный аллель *NAM-B1* способствует формированию продуктивных стеблей благодаря тому, что

влияет на улучшение метаболизма азота (Tabbitta et al., 2013). Согласно обзорной статье, в которой обобщены данные 25 работ по изучению влияния аллельных вариантов гена *NAM-B1* на 50 признаков пшеницы, 36 % исследований не показали значимых различий по массе 1000 зерен между генотипами с различными вариантами аллеля данного гена, соответственно, 23 и 41 % выявили существенное снижение и увеличение этого показателя у линий с функциональным аллелем. Следует отметить, что в большей части исследований (79 %) не установлено статистически значимого влияния полиморфизма *NAM-B1* на урожайность пшеницы и только в 4 % исследований продемонстрировано снижение урожайности у линий с функциональным аллелем (Tabbitta et al., 2017). Такой факт объясняют положительным влиянием функционального аллеля на формирование продуктивных стеблей, так как именно благодаря высокой продуктивной кустистости не происходит существенного снижения урожайности зерна, даже несмотря на низкую продуктивность колоса (Tabbitta et al., 2013).

Оценка эффекта шести комбинаций аллелей *NAM-A1/B1* на уровень проявления ряда хозяйственно полезных признаков пшеницы показала, что максимальная высота и продуктивная кустистость характерны для генотипов *c/F*, высокая продуктивность колоса и растения – для *d/NF*, наибольшая концентрация белка в зерне – для *a/F* (см. табл. 2). Похожие результаты представлены в работе (Alhabbar et al., 2018) по изучению влияния аллельного состава генов *NAM-1* на эффективность использования азота, продуктивность и содержание белка в зерне пшеницы. В данном исследовании сорт Масае, имеющий нефункциональный аллель *NAM-B1* и гаплотип *NAM-A1d*, значимо превосходил остальные генотипы по урожайности, но содержал минимальное содержание белка в зерне. Сорта, сочетающие функциональный аллель с различными гаплотипами *NAM-A1*, имели высокое содержание белка в зерне, в то время как между мутантным аллелем и содержанием белка в зерне выявлена отрицательная корреляция, независимо от гаплотипа *NAM-A1* (Alhabbar et al., 2018).

Сочетание генов *NAM-A1/B1* оказало значимое влияние на формирование всех изученных признаков пшеницы, при этом масса зерна с растения статистически не зависима от гаплотипа *NAM-A1*, а длина колоса и масса 1000 зерен – от аллеля гена *NAM-B1*. Необходимо также отметить невысокий совместный вклад этих двух генетических факторов в изменчивость большинства изученных признаков продуктивности (7.59–18.75 %), но при этом преобладание *NAM-A1/B1* в изменчивости содержания белка в зерне (72 %).

Известно, что, кроме генетического контроля, урожай и его компоненты находятся под значительным влиянием факторов внешней среды (Ahmed et al., 2020; Kronenberg et al., 2021). В нашем исследовании показана высокая статистическая значимость вклада погодных условий для изменчивости количественных признаков пшеницы. Особенно значительная роль данного фактора (более 50 %) выявлена для дисперсии признаков с широкой нормой реакции и высоким коэффициентом вариации, сильно зависящих от температуры окружающей среды и количества

осадков, — «высота растения» и «число колосков в колосе». Для остальных изученных признаков доля изменчивости, обусловленная погодными условиями, была существенно ниже и находилась в диапазоне 1.57–18.48 %, а большое значение имело взаимодействие «*NAM-A1/B1* × погодные условия» (> 60 %). Согласно нашим данным, влияние взаимодействия «*NAM-B1* × погодные условия» на признаки продуктивности ниже, чем вклад других факторов, а для признаков «длина колоса», «число зерен с колоса» и «содержание белка в зерне» он статистически незначим (см. Приложение 5).

Следует подчеркнуть высокую долю влияния *NAM-B1* на уровень накопления белка (70 %), что наряду с низким вкладом погодных условий и отсутствием генотип-средового взаимодействия указывает на эффективность интрогрессии функционального аллеля для улучшения качества зерна пшеницы в условиях Беларуси. В ряде работ зарубежных ученых показано значимое влияние взаимодействия «*NAM-B1* × среда» на признаки продуктивности и качества зерна пшеницы. Например, в исследовании (Carter et al., 2012) установлено, что различия условий среды влияют на экспрессию гена *NAM-B1*, что ограничивает использование интрогрессии функционального аллеля для повышения уровня накопления белка в зерне яровой пшеницы в регионах с коротким вегетационным периодом. Однако при изучении эффектов *NAM-B1* на общее содержание белка в зерне и основные компоненты урожайности мягкой пшеницы в Аргентине для большинства изученных признаков (в том числе для массы 1000 зерен и содержания белка) не показано значимого взаимодействия «*NAM-B1* × среда» и «*NAM-B1* × генотип», при этом влияние факторов «генотип» и «среда» было статистически значимо (Tabbitta et al., 2013).

Заключение

Впервые установлены и зарегистрированы в международной молекулярной базе данных GenBank полноразмерные нуклеотидные последовательности гена *NAM-A1* образцов *T. kiharae*, *T. spelta* к-1731, *T. dicoccoides* к-5199, *T. dicocum* к-45926. Исследованные образцы родственных видов мягкой пшеницы имели гаплотип *NAM-A1a*, за исключением *T. spelta* к-1731 (*NAM-A1c*). Для сортов *T. aestivum* характерны как гаплотип *NAM-A1d*, так и *NAM-A1a*. Среди родительских форм функциональный аллель гена *NAM-B1* обнаружен только у образцов видов-сородичей. Интрогрессивные линии, как правило, наследовали варианты генов *NAM-1* исходного сорта пшеницы. Из 22 интрогрессивных линий гаплотип *NAM-A1* родственного вида выявлен у 6 линий, а функциональный аллель *NAM-B1* — у 5. Линии 13-3 *T. dicoccoides* × Фестивальная (*a/F*) и 7 *T. spelta* к-1731 × Саратовская 29 (*c/F*) имели гаплотип *NAM-A1* и аллель *NAM-B1* от *T. dicoccoides* и *T. spelta* соответственно.

Результаты генотипирования интрогрессивных линий мягкой пшеницы и родительских форм по генам *NAM-A1* и *NAM-B1* сопоставлены с результатами полевых испытаний в условиях Беларуси и данными анализа содержания белка в зерне 2017–2021 гг. Сочетание генов *NAM-A1/B1* оказало значимое влияние на формирование всех изученных признаков пшеницы, при этом масса зерна с рас-

тения статистически независима от гаплотипа *NAM-A1*, а длина колоса и масса 1000 зерен — от аллеля *NAM-B1*. Совместный вклад этих двух генетических факторов в изменчивость хозяйственно важных признаков составляет от 8–10 % (масса зерна с растения и масса 1000 зерен) до 72 % (накопление белка в зерне).

Для большинства изученных признаков доля изменчивости, обусловленная погодными условиями, была невелика (1.57–18.48 %). Самая тесная корреляция установлена между большинством изученных признаков и ГТК в фазу налива зерна. Взаимодействие «*NAM-A1/B1* × погодные условия» определяет 65–71 % изменчивости признаков зерновой продуктивности пшеницы, но при этом не значимо для содержания белка в зерне. Вклад взаимодействия «*NAM-B1* × погодные условия» на количественные признаки ниже, чем вклад других факторов, а для признаков «длина колоса», «число зерен с колоса» и «содержание белка в зерне» он статистически незначим. Выявлено, что наличие функционального аллеля *NAM-B1* обеспечивает высокий уровень накопления белка в зерне независимо от погодных условий и при этом не приводит к существенному снижению массы 1000 зерен.

Оценка эффекта шести комбинаций аллелей *NAM-A1/B1* на уровень проявления ряда хозяйственно полезных признаков пшеницы показала, что высокая продуктивность колоса и растения, но низкий уровень содержания белка в зерне характерны для генотипов *d/NF*, наибольшая концентрация белка и невысокие показатели по основным признакам продуктивности — для *a/F*. Оптимальное сочетание изученных признаков пшеницы выявлено для генотипов *d/F*. Полученные результаты свидетельствуют об эффективности интрогрессии функционального аллеля *NAM-B1* от видов-сородичей для повышения питательной ценности мягкой пшеницы.

Список литературы / References

- ГОСТ 10846-91. Межгосударственный стандарт. Зерно и продукты его переработки. Метод определения белка. М.: Стандартинформ, 2009.
- [GOST 10846-91. Interstate standard. Grain and products of its processing. Method for determination of protein. Moscow: Standartinform Publ., 2009. (in Russian)]
- Мамонтова Л.И., Хромов С.П. Метеорологический словарь. Л.: Гидрометеиздат, 1974.
- [Mamontova L.I., Khromov S.P. Meteorological Dictionary. Leningrad: Gidrometeoizdat Publ., 1974. (in Russian)]
- Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика. М.: Высш. шк., 1973; 225-226.
- [Rokitsky P.F. Biological Statistics. Moscow: Vysshaya Shkola Publ., 1973. (in Russian)]
- Ahmed H.G.M., Sajjad M., Zeng Y., Iqbal M., Khan S.H., Ullah A., Akhtar M.N. Genome-wide association mapping through 90K SNP array for quality and yield attributes in bread wheat against water-deficit conditions. *Agriculture*. 2020;10(9):392. DOI 10.3390/agriculture10090392.
- Alhabbar Z., Yang R., Juhasz A., She M., Anwar M., Sultana N., Diepeveen D., Ma W., Islam S. *NAM* gene allelic composition and its relation to grain-filling duration and nitrogen utilization efficiency of Australian wheat. *PLoS One*. 2018;13(10):e0205448. DOI 10.1371/journal.pone.0205448.
- Avni R., Zhao R., Pearce S., Jun Y., Uauy C., Tabbitta F., Fahima T., Slade A., Dubcovsky J., Distelfeld A. Functional characterization of *GPC-1* genes in hexaploid wheat. *Planta*. 2014;239(2):313-324. DOI 10.1007/s00425-013-1977-y.

- Brevis J.C., Morris C.F., Manthey F., Dubcovsky J. Effect of the grain protein content locus *Gpc-B1* on bread and pasta quality. *J. Cereal Sci.* 2010;51:357-365. DOI 10.1016/j.jcs.2010.02.004.
- Carter A.H., Santra D.K., Kidwell K.K. Assessment of the effects of the *Gpc-B1* allele on senescence rate, grain protein concentration and mineral content in hard red spring wheat (*Triticum aestivum* L.) from the Pacific Northwest Region of the USA. *Plant Breed.* 2012; 131(1):62-68. DOI 10.1111/j.1439-0523.2011.01900.x.
- Chen X., Song G., Zhang S., Li Yu., Gao J., Islam S., Ma W., Li G., Ji W. The allelic distribution and variation analysis of the *NAM-B1* gene in Chinese wheat cultivars. *J. Integr. Agric.* 2017;16(6):1294-1303. DOI 10.1016/S2095-3119(16)61459-4.
- Cormier F., Throude M., Ravel C., Le Gouis J., Leveugle M., Lafarge S., Exbrayat F., Duranton N., Praud S. Detection of *NAM-A1* natural variants in bread wheat reveals differences in haplotype distribution between a worldwide core collection and European elite germplasm. *Agronomy.* 2015;5(2):143-151. DOI 10.3390/agronomy 5020143.
- Hagenblad J., Aspland L., Balfourier F., Ravel C., Leino M.W. Strong presence of the high grain protein content allele *NAM-B1* in Fennoscandian wheat. *Theor. Appl. Genet.* 2012;125(8):1677-1686. DOI 10.1007/s00122-012-1943-2.
- Iqbal M., Moakhar N.P., Strenzke K., Haile T., Pozniak C., Hucl P., Spaner D. Genetic improvement in grain yield and other traits of wheat grown in Western Canada. *Crop Sci.* 2016;56(2):613-624. DOI 10.2135/cropsci2015.06.0348.
- Kronenberg L., Yates S., Boer M.P., Kirchgessner N., Walter A., Hund A. Temperature response of wheat affects final height and the timing of stem elongation under field conditions. *J. Exp. Bot.* 2021; 72(2):700-717. DOI 10.1093/jxb/eraa471.
- Kuhn J.C., Stubbs T.L., Carter A.H. Effect of the *Gpc-B1* allele in hard red winter wheat in the US Pacific Northwest. *Crop Sci.* 2016;56(3): 1009-1017. DOI 10.2135/cropsci2015.08.0470.
- Kumar A., Kapoor P., Chunduri V., Sharma S., Garg M. Potential of *Aegilops* sp. for improvement of grain processing and nutritional quality in wheat (*Triticum aestivum*). *Front. Plant Sci.* 2019;10:308. DOI 10.3389/fpls.2019.00308.
- Lawlor D.W., Konnturi M., Young A.T. Photosynthesis by flag leaves of wheat in relation to protein, ribulose biphosphate carboxylase activity and nitrogen supply. *J. Exp. Bot.* 1989;40(1):43-52. DOI 10.1093/jxb/40.1.43.
- Maphosa L., Collins N.C., Taylor J., Mather D.E. Post-anthesis heat and a *Gpc-B1* introgression have similar but non-additive effects in bread wheat. *Funct. Plant Biol.* 2014;41(9):1002-1008. DOI 10.1071/FP14060.
- Mishra V.K., Pushendra K.G., Balasubramaniam A., Ramesh C., Neeraj K.V., Manish K.V., Punam S., Arun K.J. Introgression of a gene for high grain protein content (*Gpc-B1*) into two leading cultivars of wheat in Eastern Gangetic Plains of India through marker assisted backcross breeding. *J. Plant Breed. Crop Sci.* 2015;7(8): 292-300. DOI 10.5897/JPBCS2015.0514.
- Orlovskaya O., Dubovets N., Solovey L., Leonova I. Molecular cytological analysis of alien introgressions in common wheat lines derived from the cross of *Triticum aestivum* with *T. kiharae*. *BMC Plant Biol.* 2020;20(Suppl. 1):201. DOI 10.1186/s12870-020-02407-2.
- Orlovskaya O.A., Leonova I.N., Adonina I.G., Salina E.A., Khotyleva L.V., Shumny V.K. Molecular cytogenetic analysis of triticale and wheat lines with introgressions of the genetic material of *Triticaceae* tribe species. *Russ. J. Genet. Appl. Res.* 2016;6(5):527-536. DOI 10.1134/S2079059716050087.
- Peleg Z., Saranga Y., Yazici A., Fahima T., Ozturk L., Cakmak I. Grain zinc, iron and protein concentrations and zinc-efficiency in wild emmer wheat under contrasting irrigation regimes. *Plant Soil.* 2008; 306:57-67. DOI 10.1007/s11104-007-9417-z.
- Puranik S., Sahu P.P., Srivastava P.S., Prasad M. NAC proteins: regulation and role in stress tolerance. *Trends Plant Sci.* 2012;17(6):369-381. DOI 10.1016/j.tplants.2012.02.004.
- Tabbitta F., Lewis S., Vouilloz J.P., Ortega M.A., Kade M., Abbate P.E., Barneix A.J. Effects of the *Gpc-B1* locus on high grain protein content introgressed into Argentinean wheat germplasm. *Plant Breed.* 2013;132(1):48-52. DOI 10.1111/pbr.12011.
- Tabbitta F., Pearce S., Barneix A.J. Breeding for increased grain protein and micronutrient content in wheat: ten years of the *GPC-B1* gene. *J. Cereal Sci.* 2017;73:183-191. DOI 10.1016/j.jcs.2017.01.003.
- Uauy C., Brevis J.C., Dubcovsky J. The high grain protein content gene *Gpc-B1* accelerates senescence and has pleiotropic effects on protein content in wheat. *J. Exp. Bot.* 2006a;57(11):2785-2794. DOI 10.1093/jxb/erl047.
- Uauy C., Distelfeld A., Fahima T., Blechl A., Dubkovsky J. A NAC gene regulating senescence improves grain protein, zinc, and iron content in wheat. *Science.* 2006b;314(5803):1298-1301. DOI 10.1126/science.1133649.
- Vishwakarma M.K., Arun B., Mishra V.K., Yadav P.S., Kumar H., Joshi A.K. Marker-assisted improvement of grain protein content and grain weight in Indian bread wheat. *Euphytica.* 2016;208(2): 313-321. DOI 10.1007/s10681-015-1598-6.
- Wang X., Below F.E. Cytokinins in enhanced growth and tillering of wheat induced by mixed nitrogen source. *Crop Sci.* 1996;36(1): 121-126. DOI 10.2135/CROPSCI1996.0011183X003600010022x.
- Waters B.M., Uauy C., Dubcovsky J., Grusak M.A. Wheat (*Triticum aestivum*) NAM proteins regulate the translocation of iron, zinc, and nitrogen compounds from vegetative tissues to grain. *J. Exp. Bot.* 2009;60(15):4263-4274. DOI 10.1093/jxb/erp257.
- Yang R., Juhasz A., Zhang Y., Chen X., Zhang Y., She M., Zhang J., Maddern R., Edwards I., Diepeveen D., Islam S., Ma W. Molecular characterisation of the *NAM-1* genes in bread wheat in Australia. *Crop Pasture Sci.* 2018;69(12):1173-1181. DOI 10.1071/CP18273.
- Zhao D., Derkx A.P., Liu D.C., Buchner P., Hawkesford M.J. Overexpression of a NAC transcription factor delays leaf senescence and increases grain nitrogen concentration in wheat. *Plant Biol.* 2015; 17(4):904-913. DOI 10.1111/plb.12296.

ORCID ID

O.A. Orlovskaya orcid.org/0000-0002-1187-1317
S.I. Vakula orcid.org/0000-0002-2242-7107
L.V. Khotyleva orcid.org/0000-0003-0295-5022
A.V. Kilchevsky orcid.org/0000-0002-0175-9786

Благодарности. Работа выполнена при поддержке проекта 2.1.2. ГПНИ «Биотехнологии-2».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 24.03.2022. После доработки 26.01.2023. Принята к публикации 30.01.2023.