

## СОЗДАНИЕ ЛИНИЙ ТРИТИКАЛЕ, МАРКИРОВАННЫХ *Vrn*-ГЕНАМИ, И ИХ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Л.Н. Каминская<sup>1</sup>, Л.В. Корень<sup>1</sup>, И.Н. Леонова<sup>2</sup>, И.Г. Адонина<sup>2</sup>,  
Л.В. Хотылева<sup>1</sup>, Е.А. Салина<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, 220072, Минск, Беларусь, e-mail: L.Kaminskaya@igc.bas-net.by; <sup>2</sup> Институт цитологии и генетики СО РАН, 630090, Новосибирск, Россия, e-mail: salina@bionet.nsc.ru

На основе изогенных по системе *Vrn*-генов линий мягкой пшеницы (*Triticum aestivum*) созданы окто- и гексаплоидные линии тритикале (*X Triticosecale* Wittmack), маркированные генами *Vrn*, играющими важную роль в адаптации и продуктивности растений. Данные линии послужили экспериментальной моделью для исследования молекулярно-генетических основ экспрессии *Vrn*-локусов и выяснения причин ее изменчивости у тритикале. Обнаружен ингибирующий эффект генетической среды тритикале на проявление всех доминантных *Vrn*-генов, который является результатом сложных взаимодействий двух родительских геномов пшеницы и ржи.

С помощью микросателлитного анализа и гибридизации *in situ* изучена геномная структура гексаплоидных линий тритикале, выделенных из потомства октоплоидных: все линии имели 28 хромосом пшеницы и 14 хромосом ржи. Обнаруженная у некоторых линий амплификация маркеров D генома связана не с пшенично-ржаными, а пшенично-пшеничными транслокациями, т. е. с интрогрессией D генома в гомеологические хромосомы A и B геномов. Выявленная изменчивость по степени проявления *Vrn*-генов между линиями тритикале внутри отдельных комбинаций скрещивания может быть вызвана влиянием геномов, имеющих разную структуру при одном и том же уровне плоидности.

### Введение

Время цветения (или колошения) растений является важным свойством, влияющим на адаптацию и продуктивность, которое учитывается наравне с другими ценными в хозяйственном отношении признаками при проведении селекционных программ. Анализ генов, контролирующих это свойство, и полученные результаты углубляют наше понимание основных принципов развития растений и имеют большое значение в адаптивной селекции. В литературе обсуждаются возможные общие механизмы контроля данного признака у многих видов растений (Laurie, 1997; Snape *et al.*, 2000). Что касается зерновых культур, то наиболее интенсивные исследования молекулярно-генетических основ обсуждаемого признака проводятся у ячменя (*Hordeum vulgare* L.), мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), риса (*Oryza sativa* L.). У мягкой пшеницы

генетический контроль этого признака осуществляется двумя системами генов (*Vrn*-генами, контролирующими потребность растений в пониженных температурах – яровизации, и *Ppd*-генами, контролирующими реакцию растений на фотопериод – продолжительность светового дня). Фенотипическая экспрессия данных систем генов достаточно хорошо изучена у мягкой пшеницы. Как показано в исследованиях на этой культуре, *Vrn*-гены играют наиболее важную роль в определении данного признака (их вклад составляет около 75 %) (Стельмах, 1987). Можно предположить, что у тритикале система *Vrn*-генов в конкретных условиях выращивания также играет доминирующую роль в генетическом контроле типа и скорости развития растений и, следовательно, в определении их продуктивности и адаптации. Возникает вопрос, как происходит в данном случае экспрессия *Vrn*-генов и как

изменяется ее степень в зависимости от генетических и внешних факторов. Анализ имеющихся немногочисленных экспериментальных данных до сих пор не дает однозначного ответа на этот вопрос.

Современные молекулярно-генетические методы позволяют генотипировать гибридные геномы злаков, проводить оценку их геномного состава, выявлять хромосомные перестройки и их протяженность, в том числе и в районе локализации изучаемых генов (Galiba *et al.*, 1995; Майстренко и др., 1998; Хлесткина и др., 1999; Салина и др., 2001; Leonova *et al.*, 2003; Collard *et al.*, 2005). Использование таких методов для анализа генома *Triticale* позволит оценить влияние различных генетических факторов на экспрессию *Vrn*-генов.

Необходимость изучения генетической системы *Vrn*-генов у тритикале диктуется и тем обстоятельством, что эта культура находится в процессе становления и адаптации к условиям Беларуси. Яровые формы тритикале в данных условиях характеризуются, как правило, относительной позднеспелостью, что в свою очередь снижает урожай и ухудшает качество семенного материала. В этой связи исследования генетической системы *Vrn*-локусов у тритикале, молекулярно-генетических основ их экспрессии под действием генетических и факторов внешней среды, а также идентификация молекулярных маркеров для генов, влияющих на тип развития, являются актуальными и представляют особый интерес для использования в адаптивной селекции.

### Материалы и методы

Материалом для синтеза пшенично-ржаных амфилоидов с *Vrn*-генами послужили почти изогенные по *Vrn 1–3* линии мягкой пшеницы сортов Triple Dirk (TD) (Pugsley, 1971), Мироновская 808 (М 808), Безостая 1 (Стедьмах, 1987), некоторые другие линии с определенными доминантными аллелями локусов этой системы (табл. 1). В качестве опылителя использовали диплоидную озимую рожь Восход (В) и яровую аллоплазматическую рожь (АР), выделенную из популяции F<sub>2</sub> от скрещивания тритикале 6ТА 206 с диплоидной рожью Prolific (Бормотов, 1990).

Для преодоления постгамной несовместимости геномов пшеницы и ржи использовали метод эмбриокультуры. Диплоидизацию амфигаплоидов проводили 0,15 %-ным раствором колхицина в 4 %-ном ДМСО через корневую систему в фазу кушения.

Цитологический анализ растений F<sub>1</sub>–F<sub>4</sub> для уточнения их хромосомного числа проводили с использованием «кембриджской методики» (Waninge, 1965). Стабильные окто- и гексаплоидные линии тритикале выделялись из F<sub>5</sub>–F<sub>6</sub> поколений, цитологически проверенных растений пшенично-ржаных амфидиплоидов.

Критерием эффекта *Vrn*-генов служил признак «продолжительность периода всходы–колошение» при отсутствии яровизации. Генетические различия, контролируемые системой *Ppd* (фотопериодической чувствительности), исключались условиями проведения полевых опытов при достаточной длине дня (16–17 часов).

Молекулярно-генетический анализ созданной коллекции линий тритикале проводился с использованием хромосом-специфичных микросателлитных, или SSR, маркеров согласно методике (Röder *et al.*, 1998). Изучались районы локализации *Vrn*-генов у линий тритикале и определялись их кариотипы. Анализировали также 2-ю гомеологическую группу хромосом у линий гексаплоидных тритикале, в которой расположены гены *Ppd*.

Для анализа хромосом А, В и D геномов на каждую хромосому было использовано от 4 до 17 микросателлитных маркеров *Xgwm*, *Xgdm* с известной локализацией в геноме *T. aestivum* (Röder *et al.*, 1998; unpublished data; Pestsova *et al.*, 2000). Для анализа хромосом R использовались микросателлитные маркеры *Xrms* и *Xgwm*, картированные в геноме ржи *Secale cereale* (Korzun *et al.*, 2001; Khlestkina *et al.*, 2004). Кроме того, с помощью геномной гибридизации *in situ* (GISH) дополнена характеристика полученных линий тритикале. GISH анализ проводили в соответствии с методикой (Schubert *et al.*, 1998).

### Результаты

Процесс создания окто- и гексаплоидных линий тритикале, использованных в данном

Таблица 1

Генотипы мягкой пшеницы, включенные в скрещивания с рожью при синтезе пшенично-ржаных амфидиплоидов

Линия пшеницы	Сокращения	Генотип пшеницы по системе локусов <i>Vrn 1–3</i>
Triple Dirk D	TD D	<i>Vrn 1 vrn 2 vrn 3</i>
Triple Dirk B	TD B	<i>vrn 1 Vrn 2 vrn 3</i>
Triple Dirk E	TD E	<i>vrn 1 vrn 2 Vrn 3</i>
Triple Dirk F	TD F	<i>Vrn 1 Vrn 2 vrn 3</i>
Triple Dirk C	TD C	<i>vrn 1 vrn 2 vrn 3</i>
Мироновская 808-1	М 808-1	<i>Vrn 1 vrn 2 vrn 3</i>
Мироновская 808-2	М 808-2	<i>vrn 1 Vrn 2 vrn 3</i>
Мироновская 808-3	М 808-3	<i>vrn 1 vrn 2 Vrn 3</i>
Мироновская 808-12	М 808-12	<i>Vrn 1 Vrn 2 vrn 3</i>
Мироновская 808-13	М 808-13	<i>Vrn 1 vrn 2 Vrn 3</i>
Мироновская 808-23	М 808-23	<i>vrn 1 Vrn 2 Vrn 3</i>
Мироновская 808	М 808	<i>vrn 1 vrn 2 vrn 3</i>
Безостая 1-1		<i>Vrn 1 vrn 2 vrn 3</i>
Безостая 1-3		<i>vrn 1 vrn 2 Vrn 3</i>
Thatcher		<i>Vrn 1 vrn 2 vrn 3</i>
Белорусская 12		<i>vrn 1 Vrn 2 vrn 3</i>
Chinese Spring		<i>vrn 1 vrn 2 Vrn 3</i>
Prelude		<i>Vrn 1 Vrn 2 vrn 3</i>

исследовании в качестве модельных объектов, включал несколько этапов, описанных выше. Следует подчеркнуть, что полученные на первом этапе пшенично-ржаные амфидиплоиды ( $4x = 28$ ) на основе генетически маркированных по системе *Vrn*-линий мягкой пшеницы и форм озимой и яровой ржи были полностью стерильны. Для восстановления их фертильности проводилось удвоение числа хромосом путем обработки растений колхицином (см. Материал и методы). Получено от 8,3 до 37,5 % фертильных амфидиплоидов ( $2n = 56$ ) в комбинациях с озимой рожью Восход и от 8,3 до 62,5 % в комбинациях с аллоплазматической рожью (Корень, Каминская, 1995).

Созданные таким образом пшенично-ржаные амфидиплоиды позволили уже на первом этапе получить предварительную информацию об экспрессии анализируемых *Vrn*-генов в генетической среде октоплоидных тритикале. При сравнении продолжительности периода «всходы–колошение» первичных октоплоидных тритикале и соответствующих родительских линий пшеницы обнаружен

сильный ингибирующий эффект генетической среды тритикале на экспрессию всех доминантных *Vrn*-генов. Степень проявления генетических эффектов аллелей *Vrn* зависит от конкретного локуса родительской линии пшеницы и доминантных или рецессивных генов, определяющих тип развития растений ржи (Корень, Каминская, 1995).

На следующем этапе исследований был проверен хромосомный состав пшенично-ржаных растений  $F_1$ – $F_4$  и выделены стабильные октоплоидные и гексаплоидные линии тритикале, которые и послужили модельными объектами в данном исследовании (Корень и др., 1998).

В ходе многолетних опытов (2000–2004 гг.), проведенных в условиях Беларуси и Сибири, выявлен ингибирующий эффект генетической среды октоплоидных и гексаплоидных линий тритикале на экспрессию доминантных *Vrn*-генов: в подавляющем большинстве линии тритикале обоих уровней пloidности выколашивались значительно позже, чем соответствующие исходные линии пшеницы

Таблица 2

Отклонения по числу дней до колошения у линий тритикале,  
маркированных определенными генами системы *Vrn*,  
от соответствующих родительских линий пшеницы (2000–2004 гг.)

Материал	№ линии	2n	2000	2001	2002	2003	2004	Среднее за 5 лет
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Triple Dirk × Аллорожь	2	8x	+10	+13	+13	+11	+6	+10,6
	3(9)	6x	+6	0	+2	+2	+1	+2,2
<b>Triple Dirk D (<i>Vrn1</i>)</b>			<b>53</b>	<b>51</b>	<b>50</b>	<b>49</b>	<b>58</b>	<b>52,2</b>
Triple Dirk B × Восход	4	8x	+8	+6	+5	+6	+9	+6,8
	49(10)	6x	0	-8	-5	-6	-5	-4,8
	6(1)	6x	+15	+6	+4	+17	+9	+10,2
Triple Dirk B × Аллорожь	7	8x	+4	+1	+7	+1	+9	+4,4
	8(4)	6x	+4	-3	+5	-4	-2	0
<b>Triple Dirk B (<i>Vrn2</i>)</b>			<b>56</b>	<b>59</b>	<b>59</b>	<b>58</b>	<b>65</b>	<b>59,4</b>
Triple Dirk F × Аллорожь	11	6x	+7	+4	+5	+4	+7	+5,4
<b>Triple Dirk F (<i>Vrn1 Vrn2</i>)</b>			<b>52</b>	<b>49</b>	<b>49</b>	<b>48</b>	<b>56</b>	<b>50,8</b>
Triple Dirk C × Аллорожь	46(1)	6x	-10	-7	-9	-11	-11	-9,6
<b>Triple Dirk C (<i>vrn1 vrn2 vrn3</i>)</b>			<b>70</b>	<b>59</b>	<b>66</b>	<b>65</b>	<b>74</b>	<b>66,8</b>
Мироновская 808-1 × Аллорожь	41(2)	8x	+19	+25	+23	+14	+11	+18,4
	42(1)	8x	+7	+12	+8	+3	+8	+7,6
	39(6)	6x	0	+5	+5	+6	+6	+4,4
<b>Мироновская 808-1 (<i>Vrn1</i>)</b>			<b>56</b>	<b>53</b>	<b>53</b>	<b>53</b>	<b>63</b>	<b>55,6</b>
Мироновская 808-2 × Аллорожь	38-4-1	6x	-6	-8	0	0	0	-2,8
<b>Мироновская 808-2 (<i>Vrn2</i>)</b>			<b>66</b>	<b>65</b>	<b>61</b>	<b>65</b>	<b>74</b>	<b>66,2</b>
Мироновская 808-3 × Восход	50(5)	6x	+3	-5	-2	-3	-5	-2,4
Мироновская 808-3 × Аллорожь	61-65	8x	+19	+22	+18	+8	+17	+16,8
	60(25)	6x	+19	+3	+14	+7	+11	+10,8
<b>Мироновская 808-3 (<i>Vrn3</i>)</b>			<b>53</b>	<b>56</b>	<b>57</b>	<b>57</b>	<b>63</b>	<b>57,2</b>
Мироновская 808-12 × Восход	25	8x	+20	+5	+8	+13	+8	+10,8
	26	8x	+7	+2	+9	+12	+8	+7,6
	23	8x	+20	+6	+9	+4	+8	+9,4
	24(2)	6x	+7	+5	+6	+13	+8	+7,8

## Продолжение таблицы 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Мироновская 808–12 × Аллорожь	9	8x	+6	+5	+9	+14	+16	+10,0
	9(1)	6x	+2	+2	+3	+5	+8	+4,0
Мироновская 808–12 (Vrn1 Vrn2)			<b>53</b>	<b>52</b>	<b>52</b>	<b>50</b>	<b>58</b>	<b>53,0</b>
Мироновская 808–13 × Восход	9	8x	+7	+8	+10	+17	+16	+11,6
	50(4)	8x	+11	+4	+10	+17	+20	+12,4
	54(22)	8x	+7	+15	+10	+18	+12	+12,4
	52(1)	6x	+7	+7	+10	+15	+12	+10,2
	9(9)	6x	+18	+14	+12	+12	+15	+14,2
	54(7)	6x	+3	+8	+9	+9	+12	+8,2
Мироновская 808–13 × Аллорожь	12	8x	+18	+7	+8	+10	+8	+10,2
	57(4)	6x	+3	+3	+10	+4	+12	+6,4
	55(25)	6x	+15	+5	+10	+9	+8	+9,4
<b>Мироновская 808–13 (Vrn1 Vrn2)</b>			<b>53</b>	<b>52</b>	<b>52</b>	<b>50</b>	<b>58</b>	<b>53,0</b>
Мироновская 808–23 × Восход	36-1-1	6x	+15	+2	+18	+6	+6	+9,4
	36-2-4	6x	+23	+11	+18	+13	+8	+14,6
	36-5-5	6x	+25	+16	+24	+13	+22	+20,0
Мироновская 808–23 × Аллорожь	10	8x	+20	+5	+21	+15	+13	+14,8
<b>Мироновская 808–23 (Vrn2 Vrn3)</b>			<b>55</b>	<b>55</b>	<b>54</b>	<b>52</b>	<b>58</b>	<b>54,8</b>

(табл. 2). Причем полученные в Беларуси и Сибири в 2000 г. данные практически полностью совпали.

Степень проявления *Vrn*-аллелей у тритикале зависит от специфики включенных генов *Vrn*. Как показывают данные таблицы 2, доминантные гены *Vrn 1* или *Vrn 1 Vrn 2*, определяющие ранние сроки колошения у пшеницы, ингибируются в большей степени генетической средой тритикале, чем гены *Vrn 2* и *Vrn 3*, ответственные за более позднее колошение. Кроме того, в большинстве случаев позже выколашивались линии тритикале, где в качестве отцовского компонента скрещивания использовали озимую рожь (Корень, Каминская, 1995).

В пределах отдельных комбинаций скрещивания октоплоидные линии, как правило, выколашивались позже гексаплоидных. Возможно, в данном случае сказывается, с одной стороны, влияние уровня ploидности

тритикале, а с другой – влияние более сложных взаимодействий, связанных с наличием генома D у октоплоидных линий (Khotyljova *et al.*, 1998).

Известно, что гены *Ppd* влияют на период колошения только в случае короткого светового дня. Однако данный факт не исключает возможности взаимодействия или влияния генов *Vrn* и *Ppd* друг на друга, особенно принадлежащих геномам разных злаков. В наших исследованиях было показано, что хотя основной эффект на скорость колошения растений пшеницы и тритикале оказывает система *Vrn*-генов, но взаимодействие генов данной системы с *Ppd*-генами в некоторых случаях также имеет существенное влияние (Khotyljova *et al.*, 2002). По этой причине эффект доминантных *Vrn*-генов в разных по *Ppd*-аллелям генотипах может изменяться при определенных условиях. Так, линии фотонейтрального сорта пшени-

цы Triple Dirk и тритикале, созданные на их основе, выколашивались раньше, чем яровые аналоги пшеницы и линии тритикале, созданные на основе фоточувствительного сорта Мироновская 808.

В пределах отдельных комбинаций у гексаплоидных линий тритикале наблюдалась значительная изменчивость ЧДК, которая могла быть обусловлена разным геномным составом этих линий. Поскольку 42-хромосомные растения тритикального типа выделялись из потомства анеуплоидных растений октоплоидных тритикале и поэтому могли иметь сложную комбинацию пшенично-ржаных хромосом (Корень и др., 1998).

Для изучения хромосомного состава кариотипов гексаплоидных линий тритикале был проведен молекулярный анализ с помощью SSR маркеров, специфичных для пшеницы и ржи.

Сравнительный анализ амплификации пшеничных SSR маркеров в геноме ржи показал, что только 15 % маркеров, локализованных на А и D хромосомах, амплифицировали фрагменты. Для маркеров В генома наблюдался более высокий % амплификации (до 30 %). Сравнение спектров амплификации микросателлитных маркеров у линий тритикале и их родительских форм позволило сделать вывод о присутствии А и В хромосом мягкой пшеницы у всех линий тритикале (табл. 3).

У 4 линий тритикале не было обнаружено амплификации фрагментов, специфичных для маркеров D генома, что свидетельствовало об отсутствии D хромосом у гексаплоидных линий тритикале. Однако у двух линий 49 (10) и 9 (9), полученных, соответственно, на основе скрещивания линий Triple Dirk В и Мироновская 808-13 с озимой рожью сорта Восход, была обнаружена амплификация фрагментов, специфичных для маркеров длинного плеча 2D хромосомы. Амплификация 5 маркеров, локализованных на хромосоме 7D, была выявлена у второй линии из комбинации Triple Dirk В × Восход, линии 6(1).

Для анализа хромосом ржи у линий тритикале были использованы микросателлитные маркеры, картированные на ржаных хромосомах. Все ржаные маркеры амплифицировали фрагменты как у тритикале, так и у ржаных родителей, при этом у пшеничных

родителей амплификация отсутствовала. Данные, полученные с использованием ржаных маркеров, свидетельствовали о том, что все линии тритикале содержат гомеологические хромосомы ржи в полном составе. По данным GISH анализа все исследованные линии тритикале являются гексаплоидными и несут по 14 хромосом ржи. При этом в линии 6(1) отмечено присутствие пары субацентрических ржаных хромосом, в генотипе линии 9(9) на отдельных метафазных пластинках наблюдается появление дополнительной непарной телоцентрической хромосомы ржи. Транслокаций и рекомбинаций между пшеничными и ржаными хромосомами не обнаружено.

### Обсуждение

Наличие амплификации ряда маркеров D генома у некоторых гексаплоидных линий тритикале позволило предположить, что в процессе образования линий могли происходить рекомбинации между ржаными и пшеничными хромосомами. Для выяснения этого был проведен анализ тритикале методом геномной *in situ* гибридизации (GISH). Однако молекулярный анализ и гибридизация *in situ* показали наличие А и В геномов пшеницы, R хромосом ржи и отсутствие пшенично-ржаных транслокаций. Исследованные линии являются гексаплоидными и несут 28 хромосом пшеницы и 14 хромосом ржи. Следовательно, амплификация маркеров D генома связана не с пшенично-ржаными, а пшенично-пшеничными транслокациями, т. е. с интрогрессией D генома в гомеологические хромосомы пшеницы. Не исключено, что подобные транслокации могут происходить в процессе образования исследуемых гексаплоидных тритикале, поскольку они выделены из анеуплоидного потомства октоплоидных форм (Корень и др., 1998). Показано существование широкого спектра 1A/1D и 1B/1D рекомбинаций и транслокаций в процессе получения замещенных гексаплоидных линий тритикале, содержащих 1D хромосому (Hohmann *et al.*, 1999). Обнаружена амплификация фрагментов, специфичных для микросателлитных маркеров D-генома (Tams *et al.*, 2004): 3 из 39 D-геномных маркеров амплифицировали

## Молекулярный анализ хромосомного состава гексаплоидных линий тритикале

Комбинация	№ d	1, 3–6-я группы				2-я группа				7-я группа			
		A	B	D	R	A	B	D	R	A	B	D	R
TD D × Аллорожь ( <i>Vrn 1</i> )	3(9) +4	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+
TD B × Восход ( <i>Vrn 2</i> )	6(1) +9	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	Xgwm1250 Xgwm1002 Xgwm1044 Xgwm676 Xgwm428	+
TD B × Восход ( <i>Vrn 2</i> )	49(10) -	+	+	-	+	+	+	Xgwm102 Xgwm539 Xgwm846 Xgwm991	+	+	+	-	+
M 808-1 × Аллорожь ( <i>Vrn 1</i> )	39(6) +8	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+
M 808-12 × Восход ( <i>Vrn1 Vrn 2</i> )	24(2) +10	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+
M 808-12 × Восход ( <i>Vrn1 Vrn 2</i> )	70(1) +6	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+
M 808-13 × Восход ( <i>Vrn1 Vrn 3</i> )	9(9) +16	+	+	-	+	+	+	Xgwm539 Xgwm846 Xgwm991	+	+	+	-	+

+/- обозначает наличие/отсутствие амплификации маркеров, расположенных на соответствующих хромосомах пшеницы или ржи; Xgwm... – амплификация фрагмента, специфичного для данного маркера; d – отклонение по ЧДК линии тритикале от родительской линии пшеницы.

фрагменты у гексаплоидных видов тритикале. Интересным является тот факт, что данные маркеры также локализованы на 2D и 7D хромосомах.

Данные по срокам колошения исследованных линий тритикале свидетельствовали о том, что у большинства линий происходит увеличение периода колошения по сравнению с родительскими сортами пшеницы (табл. 2, 3), при этом наблюдались как меж-, так и внутригрупповые отличия несущих одну систему *Vrn* (Kaminskaya *et al.*, 2002). По-видимому, эти различия не связаны с наличием пшенично-ржаных транслокаций в районах локализации генов *Vrn*, а вызваны влиянием хромосом ржи на проявление *Vrn*-генов пшеницы вследствие изменения геномного состава тритикале. Ранее нами изучено влияние пшенично-ржаных замещений на экспрессию гена *Vrn 1*. Показано, что замена D-хромосомы на R у мягкой пшеницы Thatcher увеличивает сроки выколашивания (Каминская и др., 1999). С другой стороны,

маркеры D-генома, амплификация которых выявлена у линий 49(10) и 9(9), картированы в районе локализации гена *Ppd 1*, возможно, оказывают влияние на сроки выколашивания этих линий. Этим также могут объясняться различия по изучаемому признаку между линиями 6(1) и 49(10), имеющими одну систему генов *Vrn*.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что микросателлитные маркеры, специфичные для пшеницы и ржи, могут эффективно использоваться для анализа хромосомного состава, выявления рекомбинаций и транслокаций у тритикале. Результаты являются основанием для объяснения изменчивости экспрессии *Vrn*- и *Ppd*-генов в генетической среде тритикале.

## Литература

- Бормотов В.Е., Дубовец Н.И., Щербакова А.М., Бадаев Н.С. Тетраплоидные тритикале. Минск: Наука і тэхніка, 1990. С. 36–37.

- Каминская Л.Н., Корень Л.В., Хотылева Л.В. Влияние D/R замещений у пшеницы сорта Thatcher на экспрессию доминантного гена *Vrn 1* // Докл. НАН Беларуси. 1999. Т. 43. С. 66–69.
- Корень Л.В., Каминская Л.Н. Пшенично-ржаные амфидиплоиды с *Vrn* генами: влияние генетической среды тритикале на экспрессию этих генов // Весці АН Беларусі. Сер. біял. навук. 1995. № 4. С. 44–51.
- Корень Л.В., Каминская Л.Н., Хотылева Л.В. Цитологическое исследование пшенично-ржаных амфидиплоидов с включением *Vrn* генов // Докл. НАН Беларуси. 1998. Т. 42. С. 79–84.
- Майстренко О.И., Ефремова Т.Т., Салина Е.А., Шумный В.К. Открытие и изучение непрявления гена ярового образа жизни ржи *Sp1* в линиях с чужеродным замещением хромосомы 5R(5A) // Докл. РАН. 1998. Т. 360, № 4. С. 574–576.
- Салина Е.А., Леонова И.Н., Родер М. и др. Микросателлиты пшеницы: перспективы использования для картирования генов и анализа реконструированных геномов // Физиология растений. 2001. Т. 48. С. 441–446.
- Стельмах А.Ф. Наследование и генетическая роль различий по типу и скорости развития у мягкой пшеницы: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М., 1987.
- Хлесткина Е., Салина Е.А., Леонова И. и др. Использование RAPD и STS анализа для маркирования генов 5 гомеологической группы хромосом мягкой пшеницы // Генетика. 1999. Т. 35, № 8. С. 1–9.
- Collard B.C.Y., Jahufer M.Z.Z., Broywer J.B., Pang E.C.K. An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts // Euphytica. 2005. V. 142. P. 169–196.
- Hohmann U., Zoller J., Hermann R.G., Kazman M.E. Physical mapping and molecular-cytogenetic analysis of substitutions and translocations involving chromosome 1D in synthetic hexaploid triticale // Theor. Appl. Genet. 1999. V. 98. P. 647–656.
- Galiba G., Quarrie S.A., Sutka J. *et al.* RFLP mapping of the vernalization (*Vrn 1*) and frost resistance (*Fr1*) genes on chromosome 5A of wheat // Theor. Appl. Genet. 1995. V. 90. P. 1174–1179.
- Khotyljova L.V., Kaminskaya L.N., Koren L.V. Influence of genetic systems of *Vrn*- and *Ppd* genes on the ecological adaptation of wheat and triticale // Pradzia. LEIDINIAL. Biologija. 2002. N 4. P. 45–48.
- Kaminskaya L.N., Koren L.V., Salina E.A. *et al.* Expression of *Vrn* genes in triticale and some of their molecular-genetic aspects // Proc. 5th Intern. Triticale Symposium. Poland, 2002. V. 2. P. 103–110.
- Khlestkina E.K., Than M.H.M., Pestsova E.G. *et al.* Mapping of 99 new microsatellite-derived loci in rye (*Secale cereale* L.) including 39 expressed sequence tags // Theor. Appl. Genet. 2004. V. 109. P. 725–732.
- Khotyljova L.V., Koren L.V., Kaminskaya L.N. Development and study of spring triticale lines with *Vrn* genes // Proc. 4th Intern. Triticale Symposium. Alberta, Canada. 1998. P. 21–23.
- Korzun V., Malyshev S., Voylokov A.V., Börner A. A genetic map of rye (*Secale cereale* L.) combining RFLP, isozyme, protein, microsatellite and gene loci // Theor. Appl. Genet. 2001. V. 102. P. 709–717.
- Laurie David A. Comparative genetics of flowering time // Plant Molecular Biology, Kluwer Academic Publishers. 1997. V. 35. P. 167–177.
- Leonova I., Pestsova E., Salina E. *et al.* Mapping of the *VrnB1* gene in *Triticum aestivum* using microsatellite markers // Plant Breeding. 2003. V. 122. P. 209–212.
- Pestsova E., Ganal M.W., Röder M.S. Isolation and mapping of microsatellite markers specific for the D genome of bread wheat // Genome. 2000. V. 43. P. 689–697.
- Pugsley T.A. A genetic analysis of the spring-winter growth habit in wheat // Austral. J. Agr. Res. 1971. V. 22, N 1. P. 21–31.
- Röder M.S., Korzun V., Wendehake K. *et al.* A microsatellite map of wheat // Genetics. 1998. V. 149. P. 2007–2009.
- 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. V. 14. P. 489–495.
- Snape J.W., Laurie D.A., Worland A.J. Mapping and comparative mapping of time genes in wheat // Abstracts of the 11th EWAC conference dedicated to the memory of O.I. Maystrenko, 24–28, July, 2000, Novosibirsk, Russia. P. 13–14.
- Tams S.H., Bauer E., Qettler G., Melchinger A.E. Genetic diversity in European winter triticale determined with SSR markers and coancestry coefficient // Theor. Appl. Genet. 2004. V. 108. P. 1385–1391.
- Waninge G.J. A modified method of counting chromosomes on root tip cells of wheat // Euphytica. 1965. V. 14, N 3. P. 249–256.



## Development of triticale lines tagged with *Vrn* genes and their molecular-genetic study

L.N. Kaminskaya<sup>1</sup>, L.V. Koren<sup>1</sup>, I.N. Leonova<sup>2</sup>, I.G. Adonina<sup>2</sup>,  
L.V. Khotyleva<sup>1</sup>, E.A. Salina<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institute of Genetics and Cytology of NASB, 220072, Minsk, Belarus, e-mail: L.Kaminskaya@igc.bas-net.by; <sup>2</sup>Institute of Cytology and Genetics of SB RAS, 630090, Novosibirsk, Russia, e-mail: salina@bionet.nsc.ru

### Summary

Based on the *Vrn* gene system isogenic lines of common wheat (*Triticum aestivum* L.), octo- and hexaploid triticale lines (X *Triticosecale* Wittmack), tagged with *Vrn* genes playing an important role in adaptation and productivity of plants, were developed. The given lines served as an experimental model for studying molecular-genetic principals of *Vrn* locus expression and for finding out its variation in triticale. The inhibiting effect of triticale background on the expression of all dominant *Vrn* genes, which results from complicated interaction between two parental genomes of wheat and rye, was revealed.

The genomic structure of hexaploid triticale lines isolated from the octoploid offspring (all lines had 28 wheat chromosomes and 14 rye chromosomes) was studied by the microsatellite analysis and in situ hybridization. Amplification of D genome markers found in some lines was related to wheat-wheat translocations and not with wheat-rye ones, i.e. with introgression of D genome into homeologous chromosomes of A- and B genomes. The revealed variation in degree of *Vrn* gene expression among triticale lines within individual crossing combination may be caused by the effect of genomes having a different structure at the same ploidy level.