

doi 10.18699/vjgb-25-83

Кариологическая дифференциация среди сортов мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), контрастных по селекционному статусу и типу развития

А.Ф. Мутерко ¹, Е.Д. Бадаева ², Е.В. Зуев ³, Е.А. Салина ¹¹ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия² Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, Россия³ Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР), Санкт-Петербург, Россия muterko@gmail.com, muterko@bionet.nsc.ru

Аннотация. На протяжении многих лет оценка внутривидовой изменчивости пшеницы не теряет своей актуальности. Хотя большинство современных сортов пшеницы относят к чистолинейным, гетерогенность сортовых популяций выступает одним из механизмов поддержания популяционного гомеостаза. Возможно, высокая эволюционная стабильность конститутивного гетерохроматина и его устойчивое распределение на хромосомах позволяют эффективно использовать кариологический анализ не только для исследования генезиса и таксономии рода *Triticum* L., но и для изучения внутривидового разнообразия пшеницы. В этой связи проведена классификация 87 российских сортов мягкой пшеницы различного селекционного статуса (староместные и современные сорта) и типа развития (яровые и озимые) на основании оценки кариограмм, выполненной с использованием двух подходов. Первый подход основан на качественной оценке кариограмм по распределению гетерохроматиновых С-блоков на хромосомах. Мы также предположили, что количественная оценка кариограмм по размеру индивидуальных С-блоков (второй подход) сделает классификацию сортов более адекватной. Исследовались вариабельность, информативность и разрешающая способность диагностических признаков, тенденции в группировании сортов, а также их ассоциации с селекционным статусом и типом развития. Результаты выявили высокий потенциал С-окраски в дискриминации современных сортов мягкой пшеницы по типу развития и обособлении их озимых форм от местных культур. Гомогенность современных сортов по тестируемым кариологическим признакам была выше, чем староместных, а озимых – чем яровых. Полученная классификация отражает сохранение высокой общности в кариограммах современных яровых культур и сортовых популяций местного возделывания, а также слабую различимость кариограмм староместных сортов, контрастных по типу развития. Сравнительный анализ классификаций 20 выборочных сортов по данным С-окрашивания и ОНП-генотипирования (3126 полиморфных маркеров) предполагает, что изучение кариотипической изменчивости помогает составить более верное представление о дифференциации сортовых совокупностей пшеницы по селекционному статусу, чем при использовании ОНП-маркеров, детектирующих генную изменчивость, особенно при ограниченном количестве диагностических признаков.

Ключевые слова: мягкая яровая и озимая пшеница; староместные и современные сорта; селекция; кариологический анализ; кариосистематика; С-окраска хромосом

Для цитирования: Мутерко А.Ф., Бадаева Е.Д., Зуев Е.В., Салина Е.А. Кариологическая дифференциация среди сортов мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), контрастных по селекционному статусу и типу развития. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2025;29(6):753-768. doi 10.18699/vjgb-25-83

Финансирование. Кариотипирование сортов пшеницы выполнено при поддержке Российского научного фонда (проект № 21-76-30003-П). Кариосистематика проведена в рамках бюджетного проекта FWNR-2022-0017.

Karyological differentiation among bread wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.) with distinct breeding statuses and growth habits

A.F. Muterko ¹, E.D. Badaeva ², E.V. Zuev ³, E.A. Salina ¹¹ Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia² Vavilov Institute of General Genetics of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia³ Federal Research Center the N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), St. Petersburg, Russia muterko@gmail.com, muterko@bionet.nsc.ru

Abstract. The assessment of intraspecific variability of wheat has been relevant for years. Although most modern wheat cultivars are considered to be pure lines, the heterogeneity of varietal populations is one of the mechanisms for maintaining population homeostasis. It is possible that the high evolutionary stability of constitutive heterochromatin and

its stable distribution within chromosomes will allow us to use karyological analysis not only for studying the genesis and taxonomy of *Triticum* L., but also for studying the intraspecific diversity of wheat. In this regard, a classification of 87 Russian cultivars of common wheat differing in breeding status (landraces and modern cultivars) and growth habit (spring and winter) was carried out using two alternative approaches for assessing karyograms. The first approach uses the qualitative assessment of karyograms based on the distribution of C-bands on chromosomes. We also proposed that quantification of karyograms based on the size of C-bands would make the classification of cultivars more adequate. The variability, informative value and resolution of diagnostic features, trends in grouping cultivars, and their associations with the breeding status and growth habit were studied. A high potential of karyotyping with C-banding in discriminating modern cultivars by growth habit, as well as in separating winter cultivars from landraces has been revealed. In terms of the tested karyological features, the homogeneity of modern cultivars was higher than that of local cultivars, and the homogeneity of winter wheat was higher than that of spring wheat. The obtained classification reflects the preservation of high similarity in the karyograms of modern spring cultivars and landraces, as well as the low distinguishability between the karyograms of landraces differing in growth habit. A comparative analysis of the classifications of 20 cultivars using C-banding and SNP genotyping (3,126 polymorphic markers) suggests that studying the karyotypic variability allows us to infer a more accurate differentiation of wheat varietal populations based on the breeding status than using SNP markers that detect genetic variability, especially when the number of diagnostic features is limited.

Key words: common winter and spring wheat; modern and local cultivars; landrace; breeding; karyological analysis; karyosystematics; C-banding

For citation: Muterko A.F., Badaeva E.D., Zuev E.V., Salina E.A. Karyological differentiation among bread wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.) with distinct breeding statuses and growth habits. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Genet Breed.* 2025;29(6):753-768. doi 10.18699/vjgb-25-83

Введение

Возделывание мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. ($2n = 6x = 42$, BBAADD) в различных эколого-географических регионах при ее исключительно широком распространении привело к накоплению структурных, генетических и физиологических изменений и возникновению огромного разнообразия внутривидовых форм (Zohary et al., 2012; Zhao et al., 2023). В этой связи актуальным представляется исследование изменчивости пшеницы в пределах вида. Хотя большинство современных сортов пшеницы относят к чистолинейным, неотъемлемая гетерогенность сортовых популяций выступает одним из механизмов поддержания популяционного гомеостаза (Фадеева, Нарбут, 1969; Kudriavtsev, 2006; Serpolay-Besson et al., 2011), что приводит к плохо воспроизводимым результатам при их дифференциации (Kudriavtsev, 2006; Metakovskiy et al., 2024). Высокая эволюционная стабильность гетерохроматиновых блоков, а также их устойчивое распределение на хромосомах создают предпосылки для успешного применения хромосомных маркеров при решении подобных задач.

Ранее кариологический анализ успешно зарекомендовал себя в изучении генезиса и таксономии пшеницы в пределах рода (Iordansky et al., 1978a, b; Zurabishvili et al., 1978; Badaeva et al., 1986, 1994, 2007, 2015a, 2022; Gill et al., 1991; Jiang J. et al., 1993, 1994; Friebe, Gill, 1996; Dedkova et al., 2004, 2007, 2009), однако правомочность и перспективность его применения в оценке популяционной изменчивости этой культуры остаются предметом обсуждений. Во многом это обусловлено как достаточно высокой трудоемкостью кариологического анализа, так и сложностью описания кариотипа сорта в форме, доступной для статистической обработки. Так, кариограмма хромосом модельного сорта Chinese Spring служит стандартом при описании делеционных линий (Endo, Gill, 1996) и составлении физических карт хромосом (Delaney et al., 1995; Mickelson-Young et al., 1995), но в связи с отсут-

ствием ряда С-блоков, присутствующих у других видов или сортов пшеницы, она не может быть напрямую использована для характеристики внутривидового полиморфизма. В то же время, хотя многие авторы отмечают широкое разнообразие рисунков дифференциального окрашивания хромосом мягкой пшеницы (Iordansky et al., 1978a; Zurabishvili et al., 1978; Seal, 1982; Friebe, Gill, 1994), приводимые ими кариограммы непригодны для статистической обработки и анализа структуры популяций.

Совершенствование метода флуоресцентной гибридизации *in situ*, разработка системы олигонуклеотидов существенно упростили и удешевили проведение анализа и сделали возможным исследование больших выборок (Jiang M. et al., 2017; Huang et al., 2018; Guo et al., 2019; Hu et al., 2022). При этом оценка частоты и распределения полиморфных вариантов служила для выделения групп родственных сортов (Huang et al., 2018; Guo et al., 2019; Hu et al., 2022). Иной подход – «хромосомная паспортизация», основанная на сравнении кариотипа конкретного образца с обобщенной видовой идиограммой (Badaeva et al., 1990). В отличие от рассмотренного ранее подхода, диагностическим признаком здесь выступает индивидуальный блок конститутивного гетерохроматина (С-блок). Впервые этот подход был использован для оценки разнообразия пшеницы-спельты (Dedkova et al., 2004) и европейской группы полбы (Dedkova et al., 2009), а полученная с его помощью структура популяций *T. dicoccum* хорошо соответствовала существующей таксономической группировке видов (Гончаров, 2012; Badaeva et al., 2015b). Структура популяции *T. araraticum*, выявленная с помощью хромосомного анализа (Badaeva et al., 2022), полностью соответствовала данным молекулярно-генетического исследования тех же образцов, выполненного с использованием SSAP-маркеров.

В зависимости от селекционного статуса различают староместные (местные) и современные сорта пшеницы. Местные сорта-популяции локально адаптированы, они

традиционно возделываются на изолированных территориях, а их семеноводство осуществляется без преднамеренной гибридизации и целенаправленного изменения генотипа (Zeven, 1998). Тем не менее генетическое разнообразие местных пшениц поддерживалось возделыванием смеси из разных генотипов или часто даже смеси разных культур, что создавало возможность обмена генетическим материалом между растениями (Zeven, 1980, 1998; Feldman, 2001). Переход к научно обоснованной селекции мягкой пшеницы с целенаправленным подбором родительских генотипов, интрогрессией чужеродных генов, использованием мутагенеза произошел в конце XIX–начале XX в. (Feldman, 2001). Поскольку при создании сортов часто привлекались образцы из географически разобщенных популяций, а также представители родственных таксонов (Mujeeb-Kazi et al., 2013; Sharma M. et al., 2020; Sharma S. et al., 2021; Boehm, Cai, 2024), не исключена возможность образования качественно новых, специфических кариотипов, изолированно поддерживаемых в пуле селекционных сортов. Данное обстоятельство актуализирует оценку потенциала кариологического анализа в дифференциации и классификации сортовых совокупностей пшеницы.

Взаимосвязь между кариотипом сорта и его происхождением имеет естественные основания, поэтому принципиально важно тестировать ассоциации кариотипа и с другими, менее очевидными, но существенными в его формировании факторами. Одним из таких факторов является климатический режим региона возделывания, оказывающий непосредственное влияние на формирование типа развития пшеницы. Так, озимые сорта высевают до наступления зимних холодов, поддерживающих процесс яровизации в условиях низкой температуры и сокращенного фотопериода. Их вегетация продолжается с наступлением теплого периода года, и выколашиваются они раньше яровых культур, которые весной только высевают. Таким образом, разница в сроках колошения озимых и яровых культур может быть одним из механизмов репродуктивной изоляции при формировании специфических признаков кариотипов у сортов с альтернативным посевным сезоном. Исследования подобного рода, однако, нам неизвестны.

В настоящей работе определяется потенциал кариотипирования по конституционному гетерохроматину (С-окраска) в дискриминации сортовых популяций мягкой пшеницы российской селекции. Исследуется соотношение полученной классификации с селекционным статусом (староместные и современные) и типом развития сортов (озимые и яровые). Тестируются два подхода в извлечении диагностических признаков. Первый подход основан на качественной оценке кариограмм по распределению гетерохроматиновых С-блоков на хромосомах. Мы также предположили, что количественная оценка кариограмм по размеру индивидуальных С-блоков (второй подход) делает классификацию сортов более адекватной. Обсуждаются преимущества и недостатки карисистематики сортовых популяций в сравнении с генотипированием, основанным на однонуклеотидном полиморфизме (ОНП-генотипирование).

Материалы и методы

Растительный материал. Кариологический анализ проведен на 87 сортах мягкой пшеницы из разных регионов России. Образцы представлены произвольными выборками из 44 староместных (выведенные путем отбора из местных популяций и поступившие в коллекцию ВИР или районированные на территории СССР до 1940 г.) и 43 современных сортов (созданные после 1940 г. с участием гибридизации, в том числе отдаленной), содержащими равные фракции яровых и озимых форм (Приложение, табл. S1)¹.

Кариологический анализ. Для получения и окрашивания хромосомных препаратов применялась стандартная методика С-бэндинга (Badaeva et al., 1994). Хромосомы классифицировали в соответствии с генетической номенклатурой (Gill et al., 1991). Оценка кариограмм была выполнена с использованием двух подходов. Качественная оценка основана на дискриминации типов хромосом по наличию С-блоков, обозначенных на референсной кариограмме. Количественная оценка предполагала визуальное определение размера С-блоков по шестибальной шкале (от 0 до 5) в соответствии с предложенными ранее рекомендациями (Badaeva et al., 1990). Для этого хромосомы конкретного сорта сравнивали с обобщенной видовой идиограммой и каждому выявленному блоку присваивали номер от 0 до 5 в зависимости от размера: 1 – мелкий, 2 – небольшой, но четко видимый, 3 – средний, 4 – крупный, 5 – очень крупный. Если в какой-либо позиции блок отсутствовал или был едва различим, ему присваивали значение «0». Константные блоки, не варьирующие по размеру, из анализа исключались.

Анализ данных. Кластерный анализ проведен методами иерархической кластеризации и К-средних на евклидовых дистанциях, рассчитанных по исходным бинарным данным. Анализ методом К-средних выполнен на стандартизированной (центрированной и шкалированной) матрице дистанций. В определении оптимального количества кластеров для инициализации алгоритма К-средних использована статистика разрыва (функция *fviz_nbclust*, пакет *Rfactoextra*). Визуализация кластеров на плоскости проведена методом многомерного шкалирования исходной бинарной матрицы (функция *cmdscale*, пакет *Rstats*) (Becker et al., 1988).

Выбор метода агломеративной иерархической кластеризации осуществлялся среди восьми алгоритмов, имплементированных в функции *hclust* (пакет *Rstats*) с использованием следующих подходов. 1. Эмпирическая оценка метода основывалась на его способности разделять сорта по рассматриваемым признакам (селекционный статус, тип развития и их комбинация). Поскольку наибольшее количество состояний признака равно четырем (четыре варианта комбинаций селекционного статуса с типом развития), проводился срез тестируемой топологии на четыре кластера объемом не менее трех сортов. В каждом кластере подсчитывалось количество сортов с одинаковым состоянием признака и отбиралось наибольшее, затем эти значения суммировались по всем кластерам. 2. Для оцен-

¹ Табл. S1–S6 и рис. S1–S11 Приложения см. по адресу: <https://vavilovj-icg.ru/download/pict-2025-29/appx25.pdf>

ки бережливости кладограммы, выраженной наименьшим количеством изменений, объясняющих ее топологию, применялся алгоритм Фитча, имплементированный в функции *parsimony* из пакета *R phangorn* (Schliep, 2011).

Кладограммы рассчитаны функцией *hclust* и визуализированы с использованием *R* пакета *dendextend* (Galili, 2015). Оценка сохранения клад на дендрограмме, поддержка их монофилии проведены методом бутстрэп (Felsenstein, 1985) с 1000 итераций, имплементированным в функции *boot.phylo* из *R* пакета *ape* (Paradis, Schliep, 2019). Запутанность топологий рассчитана с помощью функции *untangle* (*R* пакет *dendextend*) в три раунда методом *random*, и дополнительный раунд методом *step2side*. Топологическая дистанция между дендрограммами (симметричная разница) (Robinson, Foulds, 1987) вычислена функцией *dist.dendlist* (*R* пакет *dendextend*).

Выделение групп сортов из кладограммы осуществляли путем среза ее топологии под заданное число кластеров, используя функцию *cutree* из пакета *R stats* (Becker et al., 1988), центры которых рассчитывали для каждого сорта из матрицы дистанций как среднее значение расстояний между данным сортом и сортами из текущего кластера. Стандартизированные координаты центров кластеров использованы в факторном анализе.

Факторный анализ проведен методом главных компонент, утилизируя тестируемые признаки в качестве добавочных качественных (функция *PCA*, пакет *R FactoMineR*) (Husson et al., 2010). Коэффициенты корреляции Пирсона (r) между добавочными переменными (признаками) и измерениями рассчитывались как квадратные корни из показателей *eta2*, а корреляции между измерениями и значениями этих переменных – как квадратные корни из показателей *cos2*. Предполагая нормальное распределение коэффициентов корреляции (согласно центральной предельной теореме), асимптотические p -значения для $r > 0.40$ при 87 наблюдениях были < 0.01 (мощность = 0.9).

Для множественного корреспондентного анализа была использована функция *MCA* (*R* пакет *FactoMineR*) на исходных бинарных данных, преобразованных в логические уровни. Тестируемые признаки утилизированы в качестве добавочных переменных.

Статистическая значимость предположений о сверхпредставленности оценивалась с помощью точного теста Фишера (функция *fisher.test* из *R* пакета *stats*), с последующей фильтрацией результатов по p -значению ≥ 0.05 .

Логистическая регрессия рассчитана с помощью функции *glm* (*R* пакет *stats*), утилизирующей квазибиномиальную модель с функцией связи *logit*.

Первичные данные ОНП-генотипирования 20 сортов из тестируемой выборки получены из работы (Afonnikova et al., 2024).

Результаты

Результаты кариологической дифференциации 87 российских сортов, а также анализ сопряженности их селекционного статуса и типа развития с полученной классификацией последовательно представлены по двум типам диагностических признаков: тип хромосом и размер С-блоков.

Качественная оценка кариограмм.

Тип хромосом как дифференцирующий признак

Ассоциация типа хромосом с селекционным статусом и типом развития сортов

При использовании типа хромосом в качестве диагностического признака суммарно детектировано 205 уникальных кариограмм для хромосом из геномов А, В и D (рис. S1). Хромосомы 4D и 5D были исключены из анализа, поскольку использованный вариант С-окраски не позволял надежно разделять их полиморфные варианты. Хотя частота встречаемости отдельных типов хромосом сильно варьировала в зависимости от селекционного статуса сортов, их типа развития, а также комбинации этих признаков (рис. S2), между геномами и группами гомеологичных хромосом различий в их распределении по тестируемым признакам не выявлено. В группах сортов с альтернативными проявлениями признаков представлено почти равное количество типов хромосом из каждого генома или гомеологической группы, что указывает на отсутствие смещения в исходных данных. Обнаружено 12 групп ассоциированных типов хромосом, характеризующихся идентичными наборами во всех сортах (табл. S2). В большинстве случаев группы представлены парами, три группы содержали три ассоциированных типа, а одна – четыре.

Для оценки статистической значимости ассоциации типов хромосом с признаками применен точный тест Фишера на сверхпредставленность в выборке сортов, гомогенных по тестируемому признаку (табл. S3). Большинство типов хромосом (144, или 70 %) были неинформативны, поскольку тест на их сверхпредставленность результативал с уровнем значимости альтернативной гипотезы $p \geq 0.05$. Количество сверхпредставленных типов хромосом в современных сортах было больше, чем в староместных сортах идентичного типа развития, при отсутствии разницы между контрастными по тестируемому признакам выборками (рис. 1, а, в).

Аналогичные результаты получены при оценке сверхпредставленности типов хромосом среди озимых и яровых сортов с идентичным селекционным статусом, и наоборот, среди староместных и современных сортов идентичного типа развития (см. рис. 1, б, г). Отсюда следует, что гомогенность современных сортов выше, чем местных, а озимых – чем яровых.

Кластерный анализ сортов по типу хромосом

Кластерный анализ проведен методами иерархической кластеризации и К-средних с целью выбора подхода, дающего наиболее адекватно интерпретируемое представление о дифференциации сортов по тестируемому признакам.

Согласно статистике разрыва, оптимальное количество кластеров, на которые разбивается выборка сортов алгоритмом К-средних, соответствует трем. Хотя визуализация кластеров на плоскости главных координат подтверждает хорошее разрешение между ними (рис. 2, а), высокой гомогенностью по рассматриваемым признакам отличался только третий кластер (см. рис. 2, б). В него вошел 21 исключительно современный сорт преимуще-

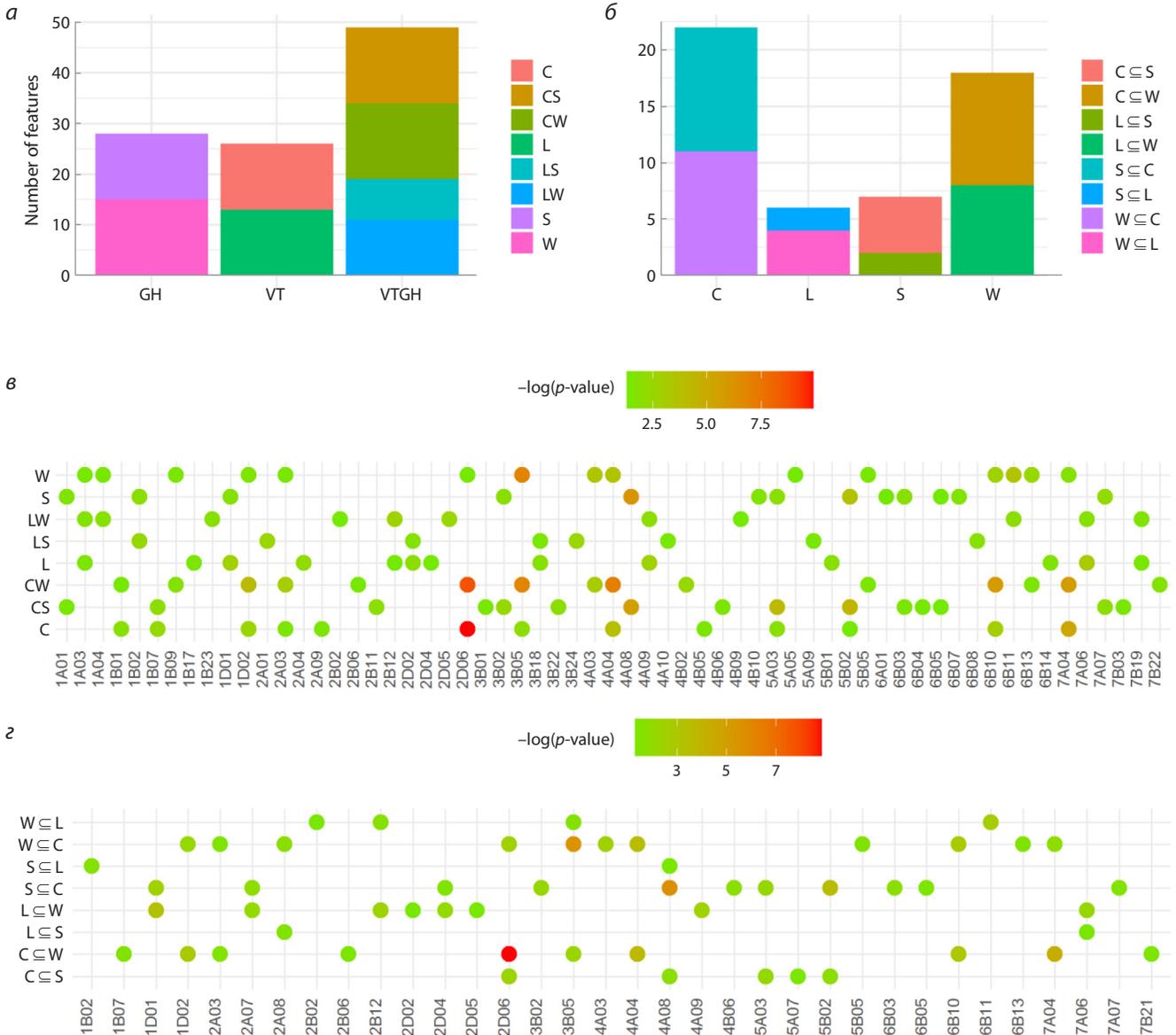


Рис. 1. Ассоциация типа хромосом с селекционным статусом и типом развития сортов.

Количество типов хромосом, ассоциированных с селекционным статусом (VT), типом развития (GH) и комбинацией этих признаков (VTGH) в общей выборке (а) и среди озимых (W) и яровых (S) староместных (W⊆L, S⊆L) и современных (W⊆C, S⊆C) сортов, и наоборот, среди местных (L) и современных (C) культур яровой (L⊆S, C⊆S) и озимой (L⊆W, C⊆W) пшеницы (б). Значения $p < 0.05$ теста на сверхпредставленность в выборке сортов, гомогенных по тестируемому признаку, из генеральной совокупности (в) и подвыборок (д).

ственно озимого типа развития (20 сортов). Первый кластер содержал 30 сортов с преобладанием староместных (27 сортов), одинаково представленных по типу развития (16 озимых и 14 яровых). Второй кластер, состоящий из 36 сортов, был наиболее гетерогенным (см. рис. 2, б).

Важно отметить, что по итогам проведенного анализа выборка сортов оптимально разделилась на три кластера, а не на ожидаемые четыре, как это предполагалось по числу рассматриваемых контрастных проявлений признаков (староместные/современные, озимые/яровые или их комбинации), и что современные сорта разделились по типу развития с отделением большей части озимых (87%), тогда как местные культуры не различимы по данному признаку. При этом CS группируются со староместными

сортами и большей частью сосредоточены во втором кластере, с преобладанием местных яровых культур.

Выбор метода агломеративной иерархической кластеризации осуществлялся эмпирически, согласно наилучшему разделению сортов по рассматриваемым признакам, а также по наименьшему количеству изменений, объясняющих тестируемую топологию (табл. S4). Оба подхода предсказывают наилучший результат для топологии кладограммы, рассчитанной методом Варда, с учетом критерия кластеризации (метод “ward.D2”).

На дендрограмме сортов две мажорные клады, характеризующиеся наибольшим удалением друг от друга, разделяют озимые сорта современной селекции (22 из 23) и остальные группы (см. рис. 2, в). Более 70% диспер-

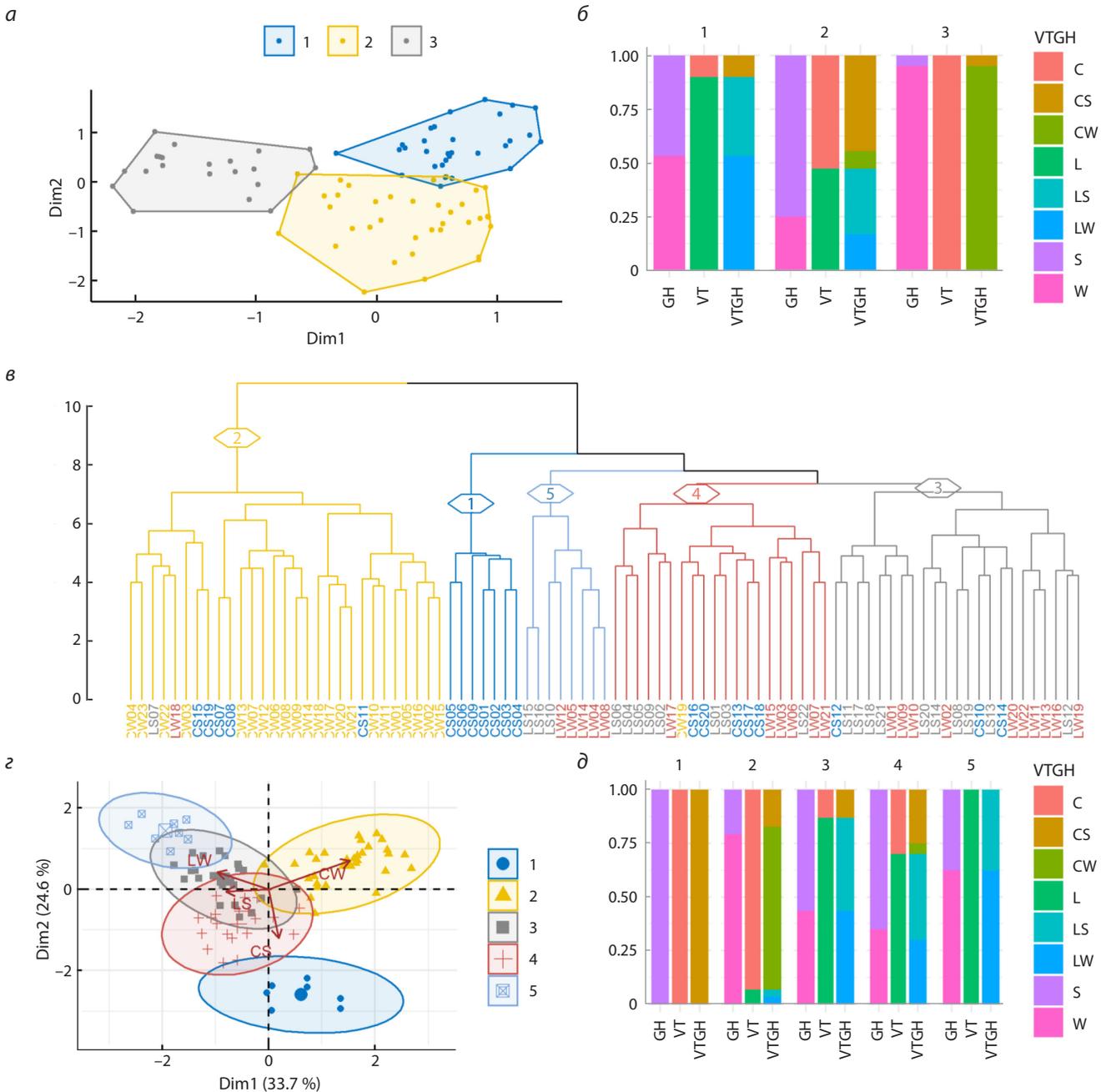


Рис. 2. Кластерный анализ сортов по типу хромосом.

a – визуализация кластеров, рассчитанных методом К-средних на плоскости главных координат; *б* – фракции сортов (W – озимые, S – яровые, L – староместные, C – современные) с альтернативными проявлениями тестируемых признаков в этих кластерах; *в* – дендрограмма иерархической кластеризации сортов, вычисленная методом Варда. Для наглядности цветом выделены первые пять кластеров с их представлением на плоскости главных факторов (*г*) и соответствующими фракциями сортов с альтернативным проявлением тестируемых признаков (*д*).

сии в средних дистанциях между сортами и мажорными кладами объясняется данным разделением, а именно выделением CW в отдельный кластер. При дальнейшей обрезке топологии выделяются небольшая группа из семи CS и крупный кластер, объединяющий почти все староместные образцы (42 из 44). Совершенно однородный кластер CS (кластер 1), хотя и характеризуется намного большим удалением как от староместных (кластер 3), так и от современных озимых сортов (кластер 2) по сравнению с удалением последних двух друг от друга, сильнее тяготеет

к группе сортов преимущественно местного возделывания (суммарная длина ветвей между кластерами 1 и 3 в 2.4 раза короче, чем между кластерами 1 и 2), среди которых уже насчитывается 40 % от CS (см. рис. 2, *д*). Эта тенденция более наглядно отражена на плоскости главных факторов тяготения сортов к кластерам (см. рис. 2, *г*). Здесь первый фактор положительно коррелирует с входением сорта в кластер 2 ($r = 0.85$), а второй фактор отрицательно коррелирует с входением сорта в кластер 1 ($r = -0.94$). На графике главных компонент большая часть CS (75 %)

локализована в отрицательных координатах первого измерения. CS высоко коррелируют со вторым измерением ($r = 0.98$), корреляция с которым также более выражена у LW ($r = 0.63$) и LS ($r = 0.31$), чем у CW ($r = 0.13$). Таким образом, мажорная клада из кластеров 1 и 3 объединяет большинство CS со староместными сортами. Примечательно, что в кластере 3 CS группируются с местными культурами преимущественно ярового типа. Можно предполагать, что современные яровые сорта подверглись менее интенсивной селекции, сохранив большую общность кариограмм со староместными сортами. Несмотря на подобие результатов альтернативных подходов кластерного анализа, иерархическая кластеризация дает более адекватно интерпретируемое представление о дифференциации сортов. Поддержка монофилии большинства клад была низкой, однако статистически достоверной (9.3–99.3 %) для всех клад высшего ранга (рис. S3).

Оптимизация длины ветвей (кофенетических дистанций между сортами) текущей топологии дендрограммы методом максимизации правдоподобия привела к сжа-

тию кластеров и лучшему их разрешению на плоскости главных координат (рис. S4). Логарифм правдоподобия ($\log Lik$) при этом возрастает от -12355 до -4115 . В этой системе более убедительным, но по-прежнему несовершенным становится разделение сортов по селекционному статусу, тогда как по типу развития староместные сорта полностью сливаются, но расщепление современных сортов по данному признаку усиливается.

Корреспондентный анализ сортов по типу хромосом

Распределение сортов на плоскости первых двух измерений представлено на рис. 3, а. Фракция объяснимой дисперсии равномерно распределена между главными измерениями (3.7 и 3.6 % соответственно). Однако целью настоящего корреспондентного анализа является не оценка вклада отдельных типов хромосом в распределение сортов, а исследование взаимосвязи между этим распределением и тестируемыми признаками, представленными здесь добавочными качественными переменными, исходя из их корреляций с измерениями.

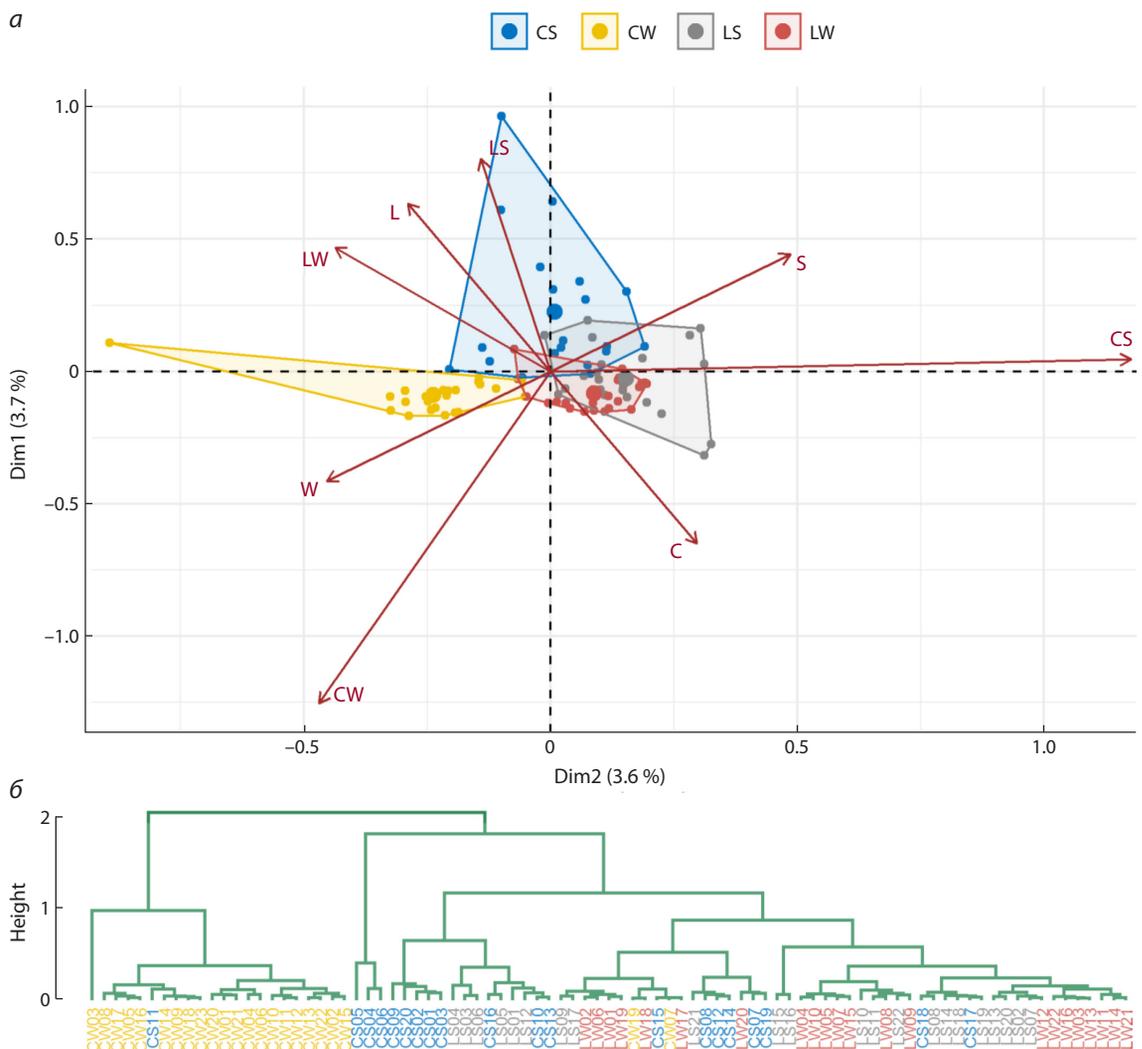


Рис. 3. Корреспондентный анализ сортов по типу хромосом.

а – распределение сортов (W – озимые, S – яровые, L – староместные, С – современные) на плоскости первых двух главных измерений; б – дендрограмма, вычисленная по координатам сортов на плоскости главных измерений.

Первое измерение высоко коррелирует с признаком, объединяющим селекционный статус и тип развития сортов ($r = 0.66$), при этом в большей степени с их типом развития ($r = 0.47$), чем с селекционным статусом ($r = 0.29, p > 0.14$). Со вторым измерением тоже наилучшим образом коррелирует признак, объединяющий селекционный статус и тип развития сортов ($r = 0.80$), но, в отличие от первого измерения, преимущественно за счет селекционного статуса ($r = 0.64$), а не типа развития ($r = 0.43$). Таким образом, тип развития в равной степени коррелирует с обоими измерениями, тогда как корреляции признака «селекционный статус сортов» с главными измерениями различаются более чем в два раза. Кроме того, признак, объединяющий селекционный статус и тип развития, сильнее тяготеет к разделению сортов по селекционному статусу (корреляция со вторым измерением на 21 % больше, чем с первым), т. е. разделение сортов скорее обусловлено их селекционным статусом, чем типом развития. Характерно, что тенденция к группированию по селекционному статусу наиболее выражена для CW ($r = 0.75$ со вторым измерением) и LS ($r = 0.47$ со вторым измерением), но не для CS ($r = 0.03 [p > 0.89]$ со вторым измерением). Корреляции CW и LS с типом развития настолько малы ($r = 0.28$ и $r = 0.08$ с первым измерением), что статистически незначимы ($p > 0.17$ и 0.87), в отличие от CS ($r = 0.64 [p < 1e-4]$ с первым измерением). Староместные озимые культуры (LW) одинаково слабо и статистически незначимо коррелировали с обоими измерениями ($r = 0.27$ и $0.25 [p > 0.20]$ со вторым и первым измерением соответственно). Таким образом, расщепление выборки детектируется только среди современных сортов, но не староместных. При этом выделение CW обусловлено главным образом их селекционным статусом, фактором селекции (искусственным отбором), который не сказывается, однако, на распределении CS.

На плоскости главных измерений можно также видеть, как хорошо различаются по типу развития современные сорта (площади кластеров озимых и яровых образцов не перекрываются) и насколько плотно слиты по этому же признаку староместные культуры. За исключением CW03, сорта CW наиболее гомогенны ($KB = 0.42$), они образуют компактную группу, в которой можно выделить плотное ядро из семи сортов (CW02, CW09, CW14, CW15, CW18, CW21, CW23). Староместные образцы тоже сгруппированы относительно компактно ($KB = 0.89$), тогда как CS формируют наиболее диффузный кластер ($KB = 1.02$) и, следовательно, наиболее гетерогенны.

Ввиду обнаружения новых факторов, выявляющих скрытые тенденции в распределении сортов, выполнен сравнительный анализ их иерархической кластеризации. В этой связи координаты сортов на плоскости главных измерений утилизированы для расчета матрицы дистанций и кластеризация сортов проведена с использованием аналогичного метода расчета топологии, что и на оригинальных данных (метод Варда). В новом варианте кладограммы (см. рис. 3, б), несмотря на полную перестройку топологии (запутанность топологий 97 %, топологическая дистанция 166 ветвей), значительно улучшилось разделение современных сортов. В частности, кластер CW стал более гомогенным. Из него полностью исключены староместные сорта и все яровые, кроме CS11; выделился об-

разец CW03, несущий три хромосомные интрогрессии от *T. miguschovae*, а CW07 перешел в кластер староместных сортов. Кластер CS расщепился, но сорта по-прежнему группируются с местными культурами преимущественно ярового типа. Изменились также дистанции между сортами, при этом их корреляция сохранилась на высоком уровне ($r = 0.80, p < 1e-5$).

Количественная оценка кариограмм.

Размер С-блоков как дифференцирующий признак

Ассоциация С-блоков с селекционным статусом и типом развития сортов

В ходе количественной оценки кариограмм по размеру С-блоков было выделено 98 диагностических категорий (рис. S5). Оценка ассоциации С-блока с тестируемым признаком проведена с помощью логистической регрессии, в ходе которой рассчитывалась статистическая значимость повышения шансов обнаружения С-блока в сортах с конкретным состоянием тестируемого признака при увеличении его размера на единицу.

При оценке отношения шансов детекции С-блоков в сортах, различающихся по селекционному статусу, статистически значимые результаты ($p < 0.05$) получены по 22 С-блокам, при этом количество детектирующихся С-блоков более выражено в староместных сортах и было в 1.4 раза больше, чем в современных. Этот же анализ выявил 27 С-блоков, ассоциированных с типом развития пшеницы, большая их часть (60 %) отождествлялась с озимым типом (табл. S5). Аналогично среди как озимых, так и яровых сортов преобладало количество С-блоков, ассоциированных со староместными сортами, а количество С-блоков, ассоциированных с озимым типом развития, было больше по сравнению с яровым типом и среди современных, и среди староместных сортов (рис. 4, а). Однако в современных сортах идентифицировано вдвое больше С-блоков, ассоциированных с альтернативными типами развития, чем в староместных, а в озимых детектировано большее количество С-блоков, ассоциированных с альтернативным селекционным статусом, чем в яровых. Это же было справедливо при тестировании ассоциации С-блоков с комбинациями признаков (см. рис. 4, а).

Полученные результаты полностью согласуются с ассоциацией тестируемых признаков с типом хромосом (см. рис. 1), подтверждая более высокую гомогенность современных сортов, чем староместных, а озимых, чем яровых, также и при количественной оценке кариограмм. Однако при сопоставлении староместных и современных сортов, безотносительно их типа развития или в подвыборках его альтернативных состояний, в местных культурах высокая вероятность обнаружения существует для большего количества С-блоков. Отмеченная же выше гомогенность выборки современных сортов при тестировании комбинации признаков достигается за счет увеличения фракции нуль-аллелей (вероятность отсутствия С-блока на хромосоме, $oddFC < 1$), а в случае тестирования подвыборок из современных и староместных культур – за счет лучшей дифференцированности кариограмм современных сортов, различающихся по типу развития. Таким образом, подтверждается не только большая разобщенность яровых и

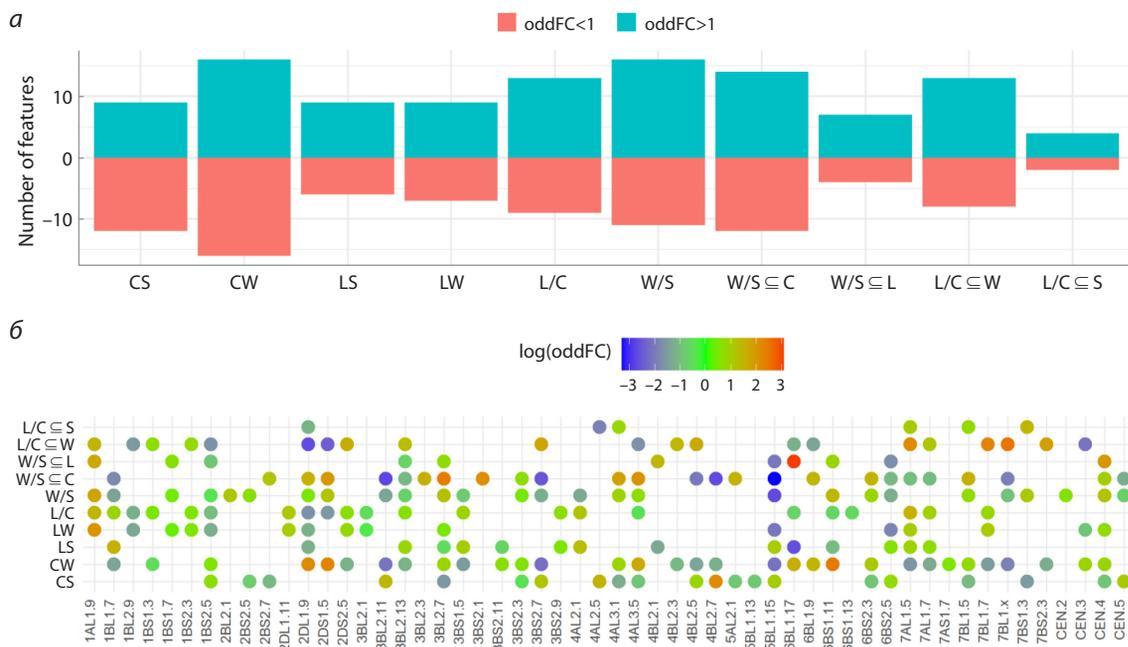


Рис. 4. Ассоциация С-блоков с селекционным статусом и типом развития сортов.

а – количество С-блоков, ассоциированных с селекционным статусом, типом развития и комбинацией этих признаков, в общей выборке и в подвыборках озимых (W), яровых (S), староместных (L) и современных (C) сортов, а также среди озимых и яровых форм староместных (W ⊆ L, S ⊆ L) и современных (W ⊆ C, S ⊆ C) сортов, и наоборот, среди местных и современных культур яровой (L ⊆ S, C ⊆ S) и озимой (L ⊆ W, C ⊆ W) пшеницы. *б* – мультипликативный фактор отношения шансов встречаемости С-блока (oddFC) в выборке сортов, гомогенных по тестируемому признаку, из генеральной совокупности и подвыборок.

озимых форм в пуле современных сортов по сравнению со староместными, но и способность ее выявления в ходе ассоциативного анализа при количественной оценке кариограмм, в отличие от качественной.

Надо отметить, что степень ассоциации (мультипликативный фактор отношения шансов) была выше для большей части С-блоков, ассоциированных с CW (см. рис. 4, б). Таким образом, большинство С-блоков (их присутствие или отсутствие), ассоциированных с современными сортами или озимым типом развития, специфичны для CW. Следовательно, современные сорта озимой селекции обладают вдвое большим набором специфических кариологических признаков (С-блоков), которые позволяют выделить их в отдельную группу. Суммарно по всем вышеприведенным вариантам анализа на ассоциацию С-блоков с тестируемыми признаками менее половины (45 %) были неинформативны.

Кластерный анализ сортов по размеру С-блоков

Хотя алгоритм статистики разрыва предсказывает оптимальное разбиение выборки сортов на семь кластеров, лучшее разрешение получено при выделении трех. Но даже в этом случае почти полностью разделяются только два из них (рис. 5, а, б). В одном из этих кластеров преобладают CW (74 %), в него вошли 17 из 23 современных озимых сортов. Другой, наиболее крупный кластер содержит преимущественно староместные сорта (68 %), которые в равной степени представлены по типу развития. Сюда же вошла и большая часть CS (80 %), что подтверждает их тяготение к староместным, а не к современным

сортам. Высокая гетерогенность кластеров по тестируемым признакам делает данный метод кластеризации мало полезным для дифференциации рассматриваемой выборки сортов.

Результаты иерархической кластеризации, выполненной методом Варда (предсказывающий наилучшее разделение сортов по тестируемым признакам и оценку бережливости топологии, табл. S6), в целом (по разделению на мажорные клады) подобны вышеприведенной классификации сортов по типу хромосом, хотя топологии соответствующих дендрограмм совершенно запутаны (до 90 %, топологическая дистанция 144 ветви, рис. S6, S7), и сохранилось только 13 общих клад, которые, впрочем, распутываются на 62 %, но сохраняют топологическую дистанцию в 14 ветвей (рис. S8). В новом варианте следует отметить большую гомогенность клады CW, а также ее разделение на два неравноценных по объему кластера (см. рис. 5, в). Правомерность этого разделения подтверждается высокой сопряженностью размеров ряда С-блоков на хромосомах 1BS и 3BS (рис. S9). Кроме того, CS и LW группируются плотнее и однороднее. Наконец, топология дендрограммы отличалась лучшей поддержкой монофилии клад ($Q3 = 43.5 \%$, рис. S10), что следует из лучшей сопряженности диагностических признаков, полученных при количественной оценке кариограмм.

Факторный анализ по размеру С-блоков

Факторный анализ проведен методом главных компонент, с использованием тестируемых признаков в качестве добавочных переменных. На плоскости главных компонент

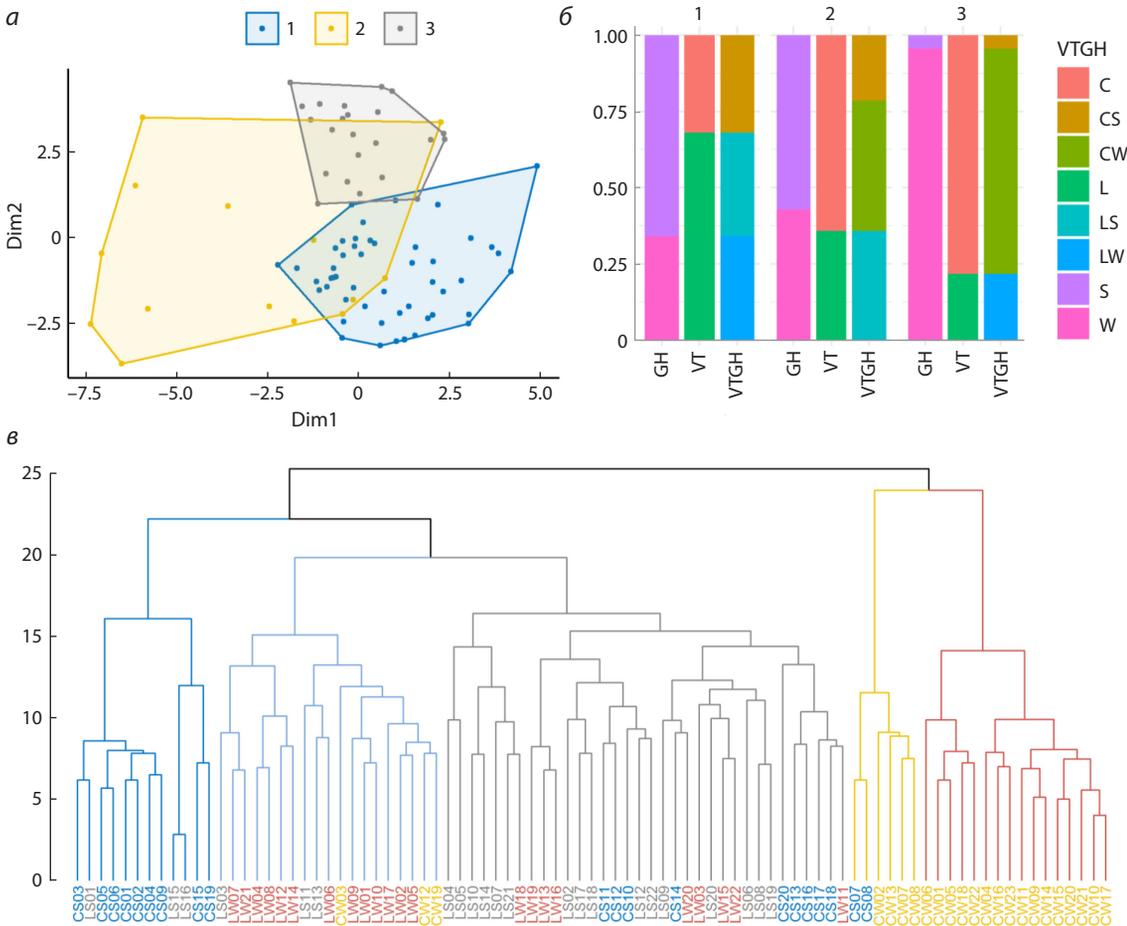


Рис. 5. Кластерный анализ сортов по размеру С-блоков.

a – визуализация кластеров, рассчитанных методом К-средних, на плоскости главных координат; *б* – фракции сортов с альтернативными проявлениями тестируемых признаков в этих кластерах (W – озимые, S – яровые, L – староместные, C – современные сорта); *в* – дендрограмма иерархической кластеризации сортов, вычисленная методом Варда (первые пять клад выделены цветом для наглядности).

(рис. 6, *a*) хорошо отделяются только CW, с плотным ядром из восьми сортов. Яровые современные сорта почти полностью перекрываются с местными культурами, преимущественно тоже яровыми. Это существенно отличается от распределения данных кластеров, наблюдаемого в ходе анализа по типу хромосом, где кластеры яровых сортов альтернативного селекционного статуса перекрывались в значительно меньшей степени. К другой отличительной особенности результатов анализа относится наметившаяся тенденция в разделении староместных культур по типу развития. Наконец, в связи с переходом от бинарной шкалы к шестибалльной изменяется плотность кластеров – они становятся разреженнее, разрешение в разделении сортов возрастает. Доля объяснимой дисперсии, приходящаяся на каждый из факторов, составляет менее 10 %, что подтверждает слабую согласованность диагностических признаков, однако их суммарное значение (18.7 %) в 2.6 раза больше полученного по главным измерениям в ходе корреспондентного анализа сортов по типу хромосом.

Отметим, что в данном анализе интересно не влияние комбинаций признаков (размера С-блоков) на различение

сортов, а выявление тенденций в группировании сортов по тестируемым признакам, которые, впрочем, слабо и статистически незначимо ($p > 0.24$) коррелируют с первым фактором. В этой связи имеет смысл рассмотреть распределение сортов в пространстве, образованном второй и третьей компонентами (см. рис. 6, *б, в*), высоко коррелирующими с тестируемыми признаками. Так, корреляция типа развития максимальна со вторым фактором ($r = 0.71$), в то время как селекционный статус сортов сильнее коррелирует с третьим ($r = 0.57$). Поскольку корреляция с типом развития выше, чем с селекционным статусом, то и разделение сортов по данному признаку значительно лучше ($\text{cos}^2 = 0.78$ для озимого и ярового типа, $\text{cos}^2 = 0.52$ для староместного и современного статуса), в этом заключается очередное отличие от корреспондентного анализа по типу хромосом. Следовательно, кроме отчетливого выделения CW, существует тенденция к разделению сортов по типу развития (см. рис. 6, *в*), которая преобладает над их селекционным статусом (см. рис. 6, *б*), и в особенности это относится к современным сортам. CS сильнее тяготеют к LS, чем CW к LW, в результате староместные сорта группируются плотнее, чем современные. Движе-

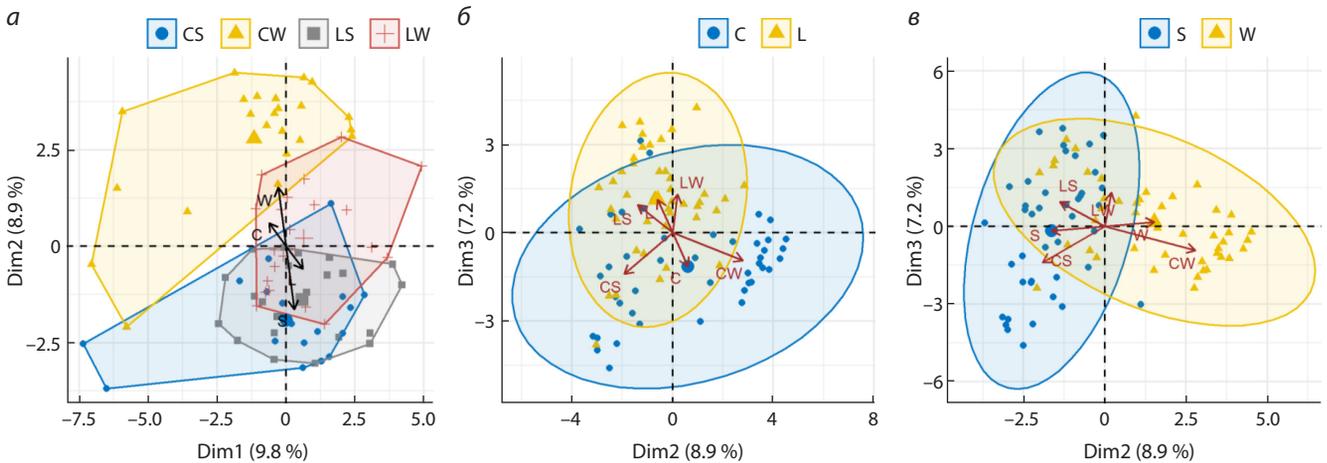


Рис. 6. Факторный анализ по размеру С-блоков.

Распределение сортов представлено на плоскости первых двух (а), а также второго и третьего (б, в) главных факторов. В последнем случае выделены группы сортов (W – озимые, S – яровые, L – староместные, C – современные) с идентичным селекционным статусом (б) и типом развития (в).

ние кластера LW в направлении озимого типа развития (W, положительное направление второго измерения Dim2) смещает направленное перпендикулярно влияние их староместного статуса (L, положительное направление третьего измерения Dim3), в результате данный кластер движется по диагонали (см. рис. 6, а). Интересно отметить влияние современной селекции на обособление озимой пшеницы. На кластер LW селекционный статус оказывает намного более сильное влияние, чем тип развития ($\cos^2 = 0.32$ с Dim3, $\cos^2 = 0.008$ с Dim2), тогда как в кластере CW влияние типа развития преобладает ($\cos^2 = 0.08$ с Dim3, $\cos^2 = 0.74$ с Dim2).

Сравнительный анализ кариологической классификации с ОНП-генотипированием

Для оценки преимуществ и недостатков кариологического подхода в классификации сортов пшеницы сравнительно с ОНП-генотипированием тестировалась их разрешающая способность в дифференциации выборки из 16 озимых культур, контрастных по селекционному статусу, и четырех современных яровых сортов. Анализ проведен по 120 признакам при оценке по типу хромосом, по 88 признакам при количественной оценке кариограмм по размеру С-блоков и по 3126 признакам при ОНП-генотипировании. В последнем случае использованы только однозначно интерпретируемые ОНП-маркеры, исключая гетерозиготы.

При сопоставлении качественного метода оценки кариограмм с ОНП-генотипированием корреляция дистанций между сортами очень низкая ($r = 0.22$, $p > 0.07$), запутанность топологий дендрограмм, вычисленных методом Варда, составляет не менее 40 % при топологической дистанции в 32 ветви. Даже минимальная оценка сохранения монофилии клад, рассчитанных по результатам ОНП-генотипирования (48.7 %), превышала третий квартиль по данному показателю при использовании типа хромосом в качестве диагностических признаков ($Q_3 = 34.5$ %) (рис. 7, а, в). На плоскости главных измерений по типу хромосом полностью разделяются все три группы сортов (см. рис. 7, з). По результатам ОНП-генотипирования сор-

та хорошо разделились только по типу развития, тогда как группа озимой пшеницы не различима по селекционному статусу (см. рис. 7, б). В этой связи кажется очевидным преимущество кариологического анализа по типу хромосом в классификации сортов по селекционному статусу, в силу его большей разрешающей способности при данных критериях дискриминации, несмотря на меньшее количество диагностических признаков и их низкую согласованность.

Применение размера С-блоков в качестве диагностического признака привело к еще большему снижению сходства между дендрограммами, повысив запутанность топологий до более чем 80 % и увеличив топологическую дистанцию до 36 ветвей, с полной утратой корреляции дистанций. В остальном различия между альтернативными подходами в оценке кариограмм по отношению к ОНП-генотипированию сходны с ранее отмеченными особенностями количественного метода: это и лучшая согласованность исходных данных в поддержке монофилии клад ($Q_3 = 56.4$ %, см. рис. 7, д), и выделение CW более разреженным кластером, и пересечение кластеров CS с LW (см. рис. 7, е). Таким образом, независимо от подхода в оценке кариограмм, к существенным отличиям кариологической классификации от ОНП-генотипирования относятся отчетливое обособление современных сортов озимой селекции и тяготение CS к староместным сортам, которое сильнее выражено в классификации по размеру С-блоков.

Обсуждение

Настоящее исследование направлено на оценку потенциала кариологического анализа в дифференциации таких сложных объектов, как сортовые совокупности, на примере отечественных сортов мягкой пшеницы местного возделывания и современных селекционных образцов. В этой связи: 1) протестированы два способа извлечения диагностических признаков из кариограмм на пригодность к дискриминации исходя из пределов их вариабельности (степени полиморфизма), информативности и

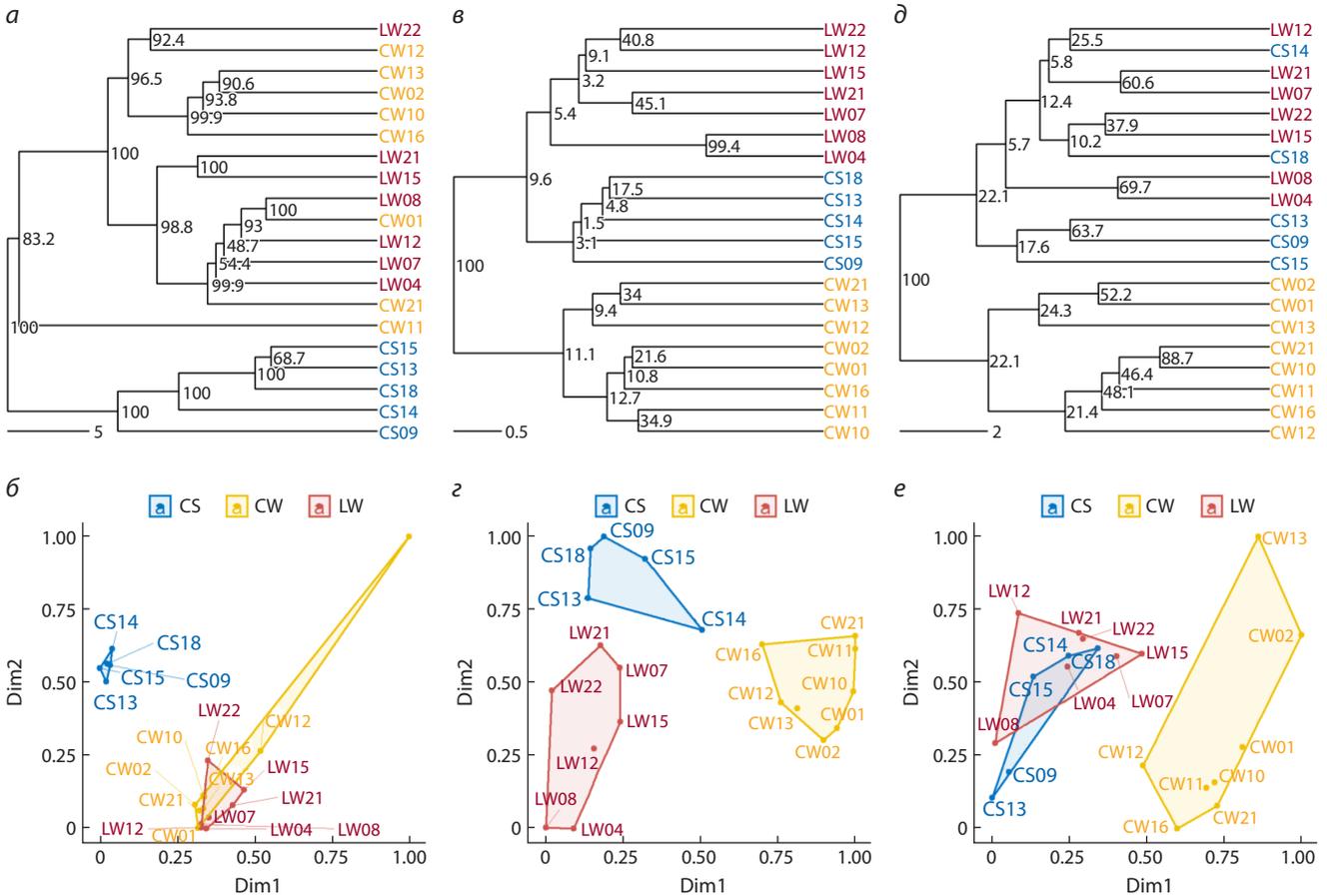


Рис. 7. Сравнительный анализ кариологической классификации с ОНП-генотипированием.

Дендрограммы и распределение сортов (W – озимые, S – яровые, L – староместные, С – современные) на плоскости главных координат представлены по результатам ОНП-генотипирования (а, б), анализу типа хромосом (в, г) и размеру С-блоков (д, е).

разрешающей способности; 2) проведена оценка преимуществ и недостатков данного подхода в сравнении с ОНП-генотипированием; 3) выполнен анализ кариологических классификаций на предмет наличия тенденций в распределении сортов в соответствии с их селекционным статусом и типом развития, а также оценены вклад последних в наблюдаемую кластеризацию и ее статистическая значимость.

В основе используемых диагностических признаков лежит вариабельность блоков конститутивного гетерохроматина. Два альтернативных подхода в ее оценке тестировались на разрешающую способность в дискриминации российских сортов мягкой пшеницы по их селекционному статусу и типу развития. Подход, базирующийся на качественной оценке кариограммы, использует бинарную шкалу, отражающую присутствие/отсутствие С-блока на хромосоме (распределение С-блоков по длине хромосомы). Недостатком этого подхода является то, что хромосомы, различающиеся только по одному С-блоку, будут отнесены к разным типам, при этом разница между ними будет оцениваться так же, как и между хромосомами с существенно различающимися кариограммами. Так, в классификации, основанной на данном методе, образец CW03 с тремя уникальными интрогрессиями от *T. miguschovae*

выделяется отдельной ветвью на дендрограмме и высоко обособливается от остальных сортов в пространстве главных измерений в ходе корреспондентного анализа.

Предполагая сокращение количества выделяемых категорий за счет объединения сходных типов хромосом и, следовательно, более адекватную классификацию сортов, мы осуществили переход к шестибалльной шкале оценки кариограмм по размеру индивидуальных С-блоков (количественная оценка). Действительно, при таком подходе количество выделяемых категорий сократилось вдвое (с 205 до 98), но в среднем во столько же раз возросло разрешение сортов (рис. S11). Последнее обусловлено трехкратным расширением диапазона оценочной шкалы, что позволяет более углубленно исследовать генезис сортов, поскольку чем выше разрешение метода, тем больше общих признаков среди классифицируемых образцов он способен детектировать. В ходе анализа главных компонент это привело не только к увеличению доли объяснимой дисперсии в кариограммах, но и к вскрытию существенности менее очевидных факторов в систематизации исследуемого материала. В частности, в классификации сортов по типу хромосом (качественная оценка кариограмм) первостепенное значение имеет фактор селекции, тогда как в классификации, основанной на ко-

личественной оценке кариограмм (размер С-блоков), обнаруживается более существенный вклад типа развития. В иерархической кластеризации преимущество перехода к шестибалльной шкале выражено в более плотной и однородной группировке сортов по рассматриваемым признакам, что оправдывает ожидаемое повышение адекватности их классификации. Поддержка монофилии клад была тоже выше, указывая на лучшую согласованность исходных данных (сопряженность диагностических признаков). Наконец, в исследовании ассоциации альтернативных дифференцирующих признаков с селекционным статусом и типом развития сортов, несмотря на сокращение диагностических категорий, неинформативная фракция сократилась с 70 до 45 %. Тем не менее, несмотря на вышеперечисленные преимущества этого подхода, его разрешающая способность в разграничении яровых современных сортов и староместных культур значительно уступает качественному подходу в оценке кариограмм. Кроме того, в интерпретации результатов следует принять риски от влияния субъективного фактора при оценке размера С-блоков.

Поскольку С-блоки представляют сегменты неактивного хроматина, отличающегося высокой степенью эволюционного консерватизма, их применение в качестве классификационных признаков более оправданно в исследовании генезиса сортов, чем специфичности их генотипов. Кариологические признаки данного типа преимущественно селекционно нейтральны и не подвержены адаптивному действию естественного отбора. В этой связи любая ассоциация кариограммы и сопряженного с формированием специфического для данного типа развития генотипа отражает только общность их происхождения. Ввиду особенностей интенсивной селекции, вероятно, что подобные ассоциации будут сильнее выражены среди современных сортов, чем среди местных популяций. Сортные совокупности локально адаптированы к эколого-географическим условиям региона возделывания, поэтому ожидается взаимосвязь между типом развития пшеницы и ее происхождением. Мы также предположили, что более гомогенные современные сорта, в создании которых нередко использовались сходные наборы элитных сортов-основателей, будут характеризоваться большей сопряженностью кариограммы с типом развития, чем гетерогенные и локально адаптированные староместные сорта. Это предположение основывается на том факте, что в процессе окультуривания имеют место события генетического дрейфа, такие как «бутылочное горлышко» и «эффект основателя», причем современные сорта испытывают воздействие этих эволюционных событий в очередной раз, когда выщепляются из пула пшениц местного возделывания (Ladizinsky, 1985; Tanksley, McCouch, 1997; Feldman, Levy, 2023). Так, исследование выборки китайских сортов мягкой пшеницы на основании FISH-анализа выявило существенную роль «эффекта основателя» в их кластеризации (Huang et al., 2018; Hu et al., 2022). В качестве диагностирующего признака авторы упомянутых работ брали сходство рисунков распределения нескольких полиморфных ДНК зондов, что в нашем исследовании соответствует качественному признаку «тип хромосомы».

Кроме того, чем интенсивнее сорта задействованы в селекции, тем сильнее они дивергируют и обособливаются, что приводит к сужению генетического разнообразия современных сортов (Reif et al., 2005; Haudry et al., 2007; Sindhu, 2022). Исходя из того, что количество сортов озимой мягкой пшеницы, допущенной к использованию на территории РФ, заметно превышает количество яровых сортов (432 и 336 соответственно (Государственный реестр..., 2024)), можно предположить, что селекция отечественной озимой пшеницы проводится более интенсивно и должна быть более обособлена от староместных сортов. Действительно, в ходе факторного анализа показана сильная ассоциация типа развития с классификацией современных сортов по типу хромосом, тогда как кариограммы староместных сортов слабо различимы по данному признаку. При этом с повышением разрешающей способности метода сопряженность типа развития с хромосомной дифференциацией слабо усилилась, с обозначением тенденции к разделению по типу развития и местных культур. Ранее при анализе 20 российских сортов с использованием SSR- и ISBP-маркеров было также отмечено разделение по субкластерам озимых и яровых форм (Адонина и др., 2016).

В ходе исследования выявлено различное влияние современной селекции на обособление озимой и яровой пшеницы. Так, современные озимые сорта, независимо от типа дифференцирующего признака (тип хромосомы или размер С-блока) и способа классификации, благодаря большей общности кариотипов выделяются строго разграниченной группой, в которой обнаруживается плотное ядро из семи-восьми сортов со сходной кариограммой. Таким образом, тип развития этих сортов ассоциирован не просто с аллельным состоянием контролирующих его генов, а отражает обособленный от яровых и староместных культур кариотип, сложившийся в ходе многолетнего и целенаправленного отбора. Данное наблюдение подтверждает большую общность в генеалогии современных сортов озимой селекции (Novoselskaya-Dragevich et al., 2015). Об этом свидетельствует и их высокая гомогенность, согласно количеству ассоциированных кариологических признаков обоих типов и межсортным дистанциям. Действительно, большинство CW сортов, вошедших в настоящее исследование, имели в своей родословной сорт Безостая 1, что, вероятно, тоже могло сказаться на обособлении этой группы.

Яровые современные сорта, в отличие от озимых, менее интенсивно задействованы в селекции. Они испытали меньшее влияние искусственного отбора и сохранили больше сродства со староместными культурами, причем преимущественно тоже ярового типа. Последнее особенно отчетливо проявляется в классификации, основанной на количественной оценке кариограмм. В данной системе кластер современных сортов яровой селекции почти полностью перекрывается сортами местного возделывания, при этом ни один из них не входит в кластер современных сортов озимой селекции (см. рис. 3, а, рис. 6, а). Факторный анализ по этим данным также подчеркивает преобладание типа развития над селекционным статусом в распределении сортов. Следует отметить, что, несмотря

на близость современных яровых к сортам местного возделывания, оба подхода кариологической классификации выявляют тенденцию в их обособлении от последних. Это выражается как в однородности кластеризации CS среди староместных культур, так и в выделении их части в самостоятельную кладу. Учитывая полное разделение CW и CS и тенденцию в разделении по данному признаку у староместных сортов, тип развития представляется существенным фактором в дифференциации культурной пшеницы, репродуктивной изолированности сортовых популяций, их эколого-географическом распространении.

При сопоставлении кариологического метода с ОНП-генотипированием были выявлены как его ключевые недостатки, так и преимущества в классификации сортов пшеницы. Среди недостатков выделяются главным образом ограниченное количество диагностических признаков и их низкая согласованность. Если количественное ограничение обусловлено природой признаков данного типа, то слабая поддержка монофилетичности клад на дендрограмме связана не только с их низкой сопряженностью в выборке, но и вытекает из их первого недостатка (Rokas, Carroll, 2005). Низкую согласованность кариологических признаков можно объяснить высокой частотой рекомбинации С-блоков, обусловленной как их большой разобщенностью на хромосоме, так и комбинаторными событиями в распределении гомологичных хромосом в ходе мейоза (Blary, Jenczewski, 2019; Koo et al., 2020; Mason, Wendel, 2020; Fan et al., 2021), а также изменениями в рисунках окрашивания хромосом в результате интрогрессий и хромосомных перестроек. Определенный вклад вносит технология приготвления и окрашивания препаратов метафазных пластинок, а также немалая доля субъективности при оценке размера С-блоков.

Соображения о монофилии клад исходят из систематики видов, основанной на их филогении. Однако предположение о полной репродуктивной изоляции, обычно применяемое к видам, недопустимо для свободно скрещивающихся между собой сортов пшеницы, а в создание сортов, как отмечено во вступительной части статьи, часто привлекались образцы из географически разобщенных популяций и даже представители родственных таксонов. Оценка монофилии клад на дендрограммах, приведенных в настоящем исследовании, отражает преимущественно степень сопряженности диагностических признаков. Действительно, поддержка монофилетичности клад была несколько выше при использовании количественного метода кариотипирования. И хотя статистическая достоверность монофилии была значимой для всех клад высшего ранга, независимо от подхода в оценке кариограмм, она резко убывала до полного исчезновения при переходе ккладам более низких рангов. В то же время обоснование монофилии было несопоставимо сильнее и статистически значимым для всех клад дендрограммы, рассчитанной по данным ОНП-генотипирования, в котором количество диагностических признаков было на порядок больше, а их сопряженность выше, ввиду более высокой плотности картирования на хромосомах.

Тем не менее ценность дифференцирующих признаков в задачах классификации определяется их способностью к дискриминации выборки по требуемым качествам. В то

время как ОНП-маркеры дают представление об аллельной, генной изменчивости, полиморфизм по хромосомным маркерам отражает изменчивость кариотипа в целом. Поскольку структура гетерохроматиновых С-блоков не подвержена генетической рекомбинации и конверсии, они эволюционно более стабильны. Хромосомные aberrации, также относящиеся к хромосомным маркерам, приводят к значительным нарушениям в мейозе гетерозигот, тем самым нивелируя гетерогенность популяции, и способствуют сохранению аутентичности исходных популяций в течение времени, как, например, отмечено для группы европейской полбы с маркерной 5B-7A транслокацией (Dedkova et al., 2009; Badaeva et al., 2015b). Таким образом, хромосомные маркеры представляются более надежными для систематизации сортовых совокупностей пшеницы с точки зрения достоверности и воспроизводимости классификации, особенно когда количество диагностических признаков ограничено. Комбинаторная изменчивость на уровне хромосом формирует новые кариотипы (классификационные категории в кариологической дифференциации), но не изменяет комбинации признаков в группах сцепления, которые часто отражены в сопряженных маркерах при ОНП-генотипировании. В результате из большого количества согласованных диагностических признаков еще не следует лучшая дискриминация их носителей, так как последняя зависит и от типа этих признаков. Действительно, сопоставление ОНП- и хромосомных маркеров, в частности при использовании типа хромосом, но не размера С-блоков в качестве диагностического признака, подтвердило превосходство последних в дискриминации выборочных 20 сортов пшеницы как по селекционному статусу, так и по типу развития, несмотря на их низкую согласованность.

Существенно, что применение хромосомных маркеров достоверно различает сорта озимой пшеницы в зависимости от их селекционного статуса, тогда как при ОНП-генотипировании эти же сорта группируются совместно. Данное обстоятельство, возможно, обусловлено, как отмечено выше, различием в типе изменчивости, детектируемой ОНП- и хромосомными маркерами. Другими словами, кариотипы разного происхождения могут не различаться по аллельному состоянию многих генов (отсюда высокая согласованность ОНП-маркеров). Не исключено, что увеличение числа ОНП-маркеров повысит разрешающую способность этого метода в дискриминации тестируемой выборки сортов по селекционному статусу. Однако количество таких маркеров уже более чем на порядок превышает минимальный набор кариологических характеристик, достаточный для успешного разрешения данной проблемы, подчеркивая преимущество кариологического метода, особенно при ограниченном, малом количестве диагностических признаков.

Закключение

Проведенное исследование выявило высокий потенциал кариотипирования по конститутивному гетерохроматину в дискриминации современных российских сортов мягкой пшеницы по типу развития и обособлении их озимых форм от староместных культур. При этом гомогенность современных сортов по тестируемым кариологическим

признакам была выше, чем местных, а озимых – чем яровых. Полученная классификация отражает сохранение высокой общности в кариотипах современных сортов яровой селекции и сортовых популяций местного возделывания, а также слабую различимость кариотипов последних, контрастных по типу развития. В связи с более однозначной ассоциацией рисунков дифференциального окрашивания хромосом с происхождением сортов, а также их высокой эволюционной стабильностью предполагается, что анализ кариотипической изменчивости помогает составить более верное представление о дифференциации сортовых совокупностей пшеницы по данному признаку, чем при использовании ОНП-маркеров, детектирующих генную изменчивость, особенно при ограниченном количестве диагностических характеристик.

Список литературы / References

- Адонина И.Г., Леонова И.Н., Бадаева Е.Д., Салина Е.А. Генотипирование сортов мягкой пшеницы разных регионов России. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2016;20(1):44-50. doi 10.18699/VJ16.107
- [Adonina I.G., Leonova I.N., Badaeva E.D., Salina E.A. Genotyping of hexaploid wheat varieties from different Russian regions. *Russ J Genet Appl Res*. 2017;7(1):6-13. doi 10.1134/S2079059717010014]
- Гончаров Н.П. Сравнительная генетика пшениц и их сородичей. Новосибирск: Акад. изд-во «Гео», 2012
- [Goncharov N.P. Comparative Genetics of Wheats and their Related Species. Novosibirsk: Acad. Publ. House "Geo", 2012 (in Russian)]
- Государственный реестр сортов и гибридов сельскохозяйственных растений, допущенных к использованию: официальное издание. М.: Росинформагротех, 2024
- [State Register of Varieties and Hybrids of Agricultural Plants Admitted for Usage (National List): official publication. Moscow: Rosinformagrotech Publ., 2024 (in Russian)]
- Фадеева Т.С., Нарбут С.И. Генетические типы сортов и особенности чистолинейных сортов. *Вестник Ленинградского государственного университета*. 1969;21(4):123-131
- [Fadeeva T.S., Narbut S.I. Genetic characteristics of varieties and characteristics of pure-line varieties. *Vestnik Leningradskogo Gosudarstvennogo Universiteta = Herald of the Leningrad State University*. 1969;21(4):123-131 (in Russian)]
- Afonnikova S.D., Kiseleva A.A., Fedyaeva A.V., Komyshev E.G., Koval V.S., Afonnikov D.A., Salina E.A. Identification of novel loci precisely modulating pre-harvest sprouting resistance and red color components of the seed coat in *T. aestivum* L. *Plants*. 2024;13:1309. doi 10.3390/plants13101309
- Badaeva E.D., Shkutina F.M., Bogdevich I.N., Badaev N.S. Comparative study of *Triticum aestivum* and *T. timopheevi* genomes using C-banding technique. *Plant Syst Evol*. 1986;154:183-194. doi 10.1007/BF00990122
- Badaeva E.D., Sozinova L.F., Badaev N.S., Muravenko O.V., Zelenin A.V. "Chromosomal passport" of *Triticum aestivum* L. *em Thell.* cv. Chinese Spring and standardization of chromosomal analysis of cereals. *Cereal Res Commun*. 1990;18(4):273-281
- Badaeva E.D., Badaev N.S., Gill B.S., Filatenko A.A. Intraspecific karyotype divergence in *Triticum araraticum* (*Poaceae*). *Plant Syst Evol*. 1994;192:117-145. doi 10.1007/BF00985912
- Badaeva E.D., Dedkova O.S., Gay G., Pukhalskiy V.A., Zelenin A.V., Bernard S., Bernard M. Chromosomal rearrangements in wheat: their types and distribution. *Genome*. 2007;50(10):907-926. doi 10.1139/g07-072
- Badaeva E.D., Dedkova O.S., Pukhalskiy V.A., Zelenin A.V. Chromosomal changes over the course of polyploid wheat evolution and domestication. In: Ogihara Y., Takumi S., Handa H. (Eds) *Advances in Wheat Genetics: From Genome to Field*. Tokyo: Springer, 2015a; 83-89. doi 10.1007/978-4-431-55675-6_9
- Badaeva E.D., Keilwagen J., Knüpffer H., Waßermann L., Dedkova O.S., Mitrofanova O.P., Kovaleva O.N., Liapunova O.A., Pukhalskiy V.A., Özkan H., Graner A., Willcox G., Kilian B. Chromosomal passports provide new insights into diffusion of emmer wheat. *PLoS One*. 2015b;10(5):e0128556. doi 10.1371/journal.pone.0128556
- Badaeva E.D., Konovalov F.A., Knüpffer H., Fricano A., Ruban A.S., Kehel Z., Zoshchuk S.A., ... Filatenko A., Bogaard A., Jones G., Özkan H., Kilian B. Genetic diversity, distribution and domestication history of the neglected GGA¹A¹ gene pool of wheat. *Theor Appl Genet*. 2022;135(3):755-776. doi 10.1007/s00122-021-03912-0
- Becker R.A., Chambers J.M., Wilks A.R. *The New S Language: A Programming Environment for Data Analysis and Graphics*. Berlin: Springer, 1988
- Blary A., Jenczewski E. Manipulation of crossover frequency and distribution for plant breeding. *Theor Appl Genet*. 2019;132(3):575-592. doi 10.1007/s00122-018-3240-1
- Boehm J., Jr., Cai X. Enrichment and diversification of the wheat genome via alien introgression. *Plants*. 2024;13(3):339. doi 10.3390/plants13030339
- Dedkova O.S., Badaeva E.D., Mitrofanova O.P., Zelenin A.V., Pukhalskiy V.A. Analysis of intraspecific divergence of hexaploid wheat *Triticum spelta* L. by C-banding of chromosomes. *Russ J Genet*. 2004;40:1111-1126. doi 10.1023/B:RUGE.0000044755.18085.7e
- Dedkova O., Badaeva E., Mitrofanova O., Bilinskaya E., Pukhalskiy V. Analysis of intraspecific diversity of cultivated emmer *Triticum dicoccum* (Schrank.) Schuebl using C-banding technique. *Russ J Genet*. 2007;43:1271-1285. doi 10.1134/S1022795407110105
- Dedkova O., Badaeva E., Amosova A., Martynov S., Ruanet V., Mitrofanova O., Pukhalskiy V. Diversity and the origin of the European population of *Triticum dicoccum* (Schrank) Schuebl. As revealed by chromosome analysis. *Russ J Genet*. 2009;45:1082-1091. doi 10.1134/S1022795409090099
- Delaney D.E., Nasuda S., Endo T.R., Gill B.S., Hulbert S.H. Cytologically based physical maps of the group-2 chromosomes of wheat. *Theor Appl Genet*. 1995;91(4):568-573. doi 10.1007/BF00223281
- Endo T.R., Gill B.S. The deletion stocks of common wheat. *J Hered*. 1996;87(4):295-307. doi 10.1093/oxfordjournals.jhered.a023003
- Fan C., Hao M., Jia Z., Neri C., Chen X., Chen W., Liu D., Lukaszewski A.J. Some characteristics of crossing over in induced recombination between chromosomes of wheat and rye. *Plant J*. 2021;105(6):1665-1676. doi 10.1111/tpj.15140
- Feldman M. Origin of cultivated wheat. In: Bonjean A.P., Angus W.J. (Eds) *The World Wheat Book: A History of Wheat Breeding*. Technique & Doc, 2001;3-56
- Feldman M., Levy A.A. *Wheat Evolution and Domestication*. Springer, 2023. doi 10.1007/978-3-031-30175-9
- Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*. 1985;39(4):783-791. doi 10.1111/j.1558-5646.1985.tb00420.x
- Friebe B., Gill B.S. C-band polymorphism and structural rearrangements detected in common wheat (*Triticum aestivum*). *Euphytica*. 1994;78:1-5. doi 10.1007/BF00021392
- Friebe B., Gill B.S. Chromosome banding and genome analysis in diploid and cultivated polyploid wheats. In: Jauhar P.P. (Ed.) *Methods in Genome Analysis in Plants*. CRC Press, 1996;39-60
- Galili T. dendextend: an R package for visualizing, adjusting, and comparing trees of hierarchical clustering. *Bioinformatics*. 2015;31(22):3718-3720. doi 10.1093/bioinformatics/btv428
- Gill B.S., Friebe B., Endo T.R. Standard karyotype and nomenclature system for description of chromosome bands and structural aberrations in wheat (*Triticum aestivum*). *Genome*. 1991;34(5):830-839. doi 10.1139/g91-128
- Guo J., Gao D., Gong W., Li H., Li J., Li G., Song J., Liu J., Yang Z., Liu C. Genetic diversity in common wheat lines revealed by fluorescence in situ hybridization. *Plant Syst Evol*. 2019;305:247-254. doi 10.1007/s00606-019-1567-y
- Haudry A., Cenci A., Ravel C., Bataillon T., Brunel D., Poncet C., Hochu I., Poirier S., Santoni S., Glémin S., David J. Grinding up wheat:

- a massive loss of nucleotide diversity since domestication. *Mol Biol Evol.* 2007;24(7):1506-1517. doi 10.1093/molbev/msm077
- Hu Z., Luo J., Wan L., Luo J., Li Y., Fu S., Liu D., Hao M., Tang Z. Chromosomes polymorphisms of Sichuan wheat cultivars displayed by ND-FISH landmarks. *Cereal Res Commun.* 2022;50:253-262. doi 10.1007/s42976-021-00173-x
- Huang X., Zhu M., Zhuang L., Zhang S., Wang J., Chen X., Wang D., ... Chu C., Du P., Qi Z., Wang H., Chen P. Structural chromosome rearrangements and polymorphisms identified in Chinese wheat cultivars by high-resolution multiplex oligonucleotide FISH. *Theor Appl Genet.* 2018;131(9):1967-1986. doi 10.1007/s00122-018-3126-2
- Husson F., Le S., Pages J. Exploratory Multivariate Analysis by Example Using R. Chapman and Hall, 2010
- Iordansky A.B., Zurabishvili T.B., Badaev N.S. Linear differentiation of cereal chromosomes. I. Common wheat and its supposed ancestors. *Theor Appl Genet.* 1978a;51(4):145-152. doi 10.1007/BF00273138
- Iordansky A.B., Zurabishvili T.G., Badaev N.S. Linear differentiation of cereal chromosomes: III. Rye, triticale and 'Aurora' variety. *Theor Appl Genet.* 1978b;51(6):281-288. doi 10.1007/BF00274816
- Jiang J., Friebe B., Gill B.S. Recent advances in alien gene transfer in wheat. *Euphytica.* 1993;73:199-212. doi 10.1007/BF00036700
- Jiang J., Friebe B., Gill B.S. Chromosome painting of Amigo wheat. *Theor Appl Genet.* 1994;89(7-8):811-813. doi 10.1007/BF00224501
- Jiang M., Xiao Z.Q., Fu S.L., Tang Z.X. FISH karyotype of 85 common wheat cultivars/lines displayed by ND-FISH using oligonucleotide probes. *Cereal Res Commun.* 2017;45:549-563. doi 10.1556/0806.45.2017.049
- Koo D.H., Friebe B., Gill B.S. Homoeologous recombination: a novel and efficient system for broadening the genetic variability in wheat. *Agronomy.* 2020;10(8):1059. doi 10.3390/agronomy10081059
- Kudriavtsev A.M. Intravarietal heterogeneity of durum wheat is an important component of species biodiversity. *Russ J Genet.* 2006; 42(10):1437-1440. doi 10.1134/S1022795406100139
- Ladizinsky G. Founder effect in crop-plant evolution. *Econ Bot.* 1985; 39:191-199. doi 10.1007/BF02907844
- Mason A.S., Wendel J.F. Homoeologous exchanges, segmental allopolyploidy, and polyploid genome evolution. *Front Genet.* 2020;11: 1014. doi 10.3389/fgene.2020.01014
- Metakovsky E., Melnik V.A., Pascual L., Wrigley C.W. How important are genetic diversity and cultivar uniformity in wheat? The case of Gliadins. *Genes (Basel).* 2024;15(7):927. doi 10.3390/genes 15070927
- Mickelson-Young L., Endo T.R., Gill B.S. A cytogenetic ladder map of the wheat homoeologous group 4 chromosomes. *Theor Appl Genet.* 1995;90(7-8):1007-1011. doi 10.1007/BF00222914
- Mujeeb-Kazi A., Kazi A.G., Dundas I., Rasheed A., Ogbonnaya F.C., Kishii M., Bonnett D., Wang R.C., Xu S., Chen P., Mahmood T., Bux H., Farrakh S. Genetic diversity for wheat improvement as a conduit to food security. In: Sparks D.L. (Ed.) *Advances in Agronomy.* Acad. Press, Burlington, 2013;179-257. doi 10.1016/B978-0-12-417187-9.00004-8
- Novoselskaya-Dragovich A.Y., Bepalova L.A., Shishkina A.A., Melnik V.A., Upelnik V.P., Fisenko A.V., Dedova L.V., Kudryavtsev A.M. Genetic diversity of common wheat varieties at the gliadin-coding loci. *Russ J Genet.* 2015;51(3):262-271. doi 10.1134/S1022795415030102
- Paradis E., Schliep K. ape 5.0: an environment for modern phylogenetics and evolutionary analyses in R. *Bioinformatics.* 2019;35(3): 526-528. doi 10.1093/bioinformatics/bty633
- Reif J.C., Zhang P., Dreisigacker S., Warburton M.L., van Ginkel M., Hoisington D., Bohn M., Melchinger A.E. Wheat genetic diversity trends during domestication and breeding. *Theor Appl Genet.* 2005;110(5):859-864. doi 10.1007/s00122-004-1881-8
- Robinson D.F., Foulds L.R. Comparison of phylogenetic trees. *Math Biosci.* 1987;53(1-2):131-147. doi 10.1016/0025-5564(81)90043-2
- Rokas A., Carroll S.B. More genes or more taxa? The relative contribution of gene number and taxon number to phylogenetic accuracy. *Mol Biol Evol.* 2005;22(5):1337-1344. doi 10.1093/molbev/msi121
- Schliep K.P. phangorn: phylogenetic analysis in R. *Bioinformatics.* 2011;27(4):592-593. doi 10.1093/bioinformatics/btq706
- Seal A.G. C-banded wheat chromosomes in wheat and triticale. *Theor Appl Genet.* 1982;63(1):39-47. doi 10.1007/BF00303488
- Serpoly-Besson E., Dawson J., Chable V., van Bueren E.L., Osman A., Pino S., Silveri D., Goldringer I. Diversity of different farmer and modern wheat varieties cultivated in contrasting organic farming conditions in western Europe and implications for European seed and variety legislation. *Org Agric.* 2011;1(3):127-145. doi 10.1007/s13165-011-0011-6
- Sharma M., Punya S., Gupta B.B. Role of wild relatives for development of climate-resilient varieties. In: Salgotra R.K., Zargar S.M. (Eds) *Rediscovery of Genetic and Genomic Resources for Future Food Security.* Springer, Singapore, 2020;303-314. doi 10.1007/978-981-15-0156-2_11
- Sharma S., Schulthess A.W., Bassi F.M., Badaeva E.D., Neumann K., Graner A., Özkan H., Werner P., Knüpffer H., Kilian B. Introducing beneficial alleles from plant genetic resources into the wheat germplasm. *Biology (Basel).* 2021;10(10):982. doi 10.3390/biology 10100982
- Sindhu A. Wheat genetic diversity trends as a result of domestication and plant breeding. *Pharma Innovation.* 2022;11(6):427-433
- Tanksley S.D., McCouch S.R. Seed banks and molecular maps: unlocking genetic potential from the wild. *Science.* 1997;277(5329):1063-1066. doi 10.1126/science.277.5329.1063
- Zeven A.C. Polyploidy and domestication: the origin and survival of polyploids in cytotype mixtures. In: Lewis W.H. (Ed.) *Polyploidy.* Basic Life Sciences. Vol. 13. Springer, 1980;385-407. doi 10.1007/978-1-4613-3069-1_20
- Zeven A.C. Landraces: a review of definitions and classifications. *Euphytica.* 1998;104:127-139. doi 10.1023/A:1018683119237
- Zhao X., Guo Y., Kang L., Yin C., Bi A., Xu D., Zhang Z., ... Kear P., Wang J., Liu Z., Fu X., Lu F. Population genomics unravels the Holocene history of bread wheat and its relatives. *Nat Plants.* 2023; 9(3):403-419. doi 10.1038/s41477-023-01367-3
- Zohary D., Hopf M., Weiss E. *Domestication of Plants in the Old World.* Oxford Univ. Press, 2012
- Zurabishvili T.G., Iordansky A.B., Badaev N.S. Linear differentiation of cereal chromosomes. II. Polyploid wheats. *Theor Appl Genet.* 1978;51(5):201-210. doi 10.1007/BF00273766

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 06.03.2025. После доработки 19.05.2025. Принята к публикации 26.05.2025.