

УДК 633.111.1:631.524:631.547.5

ВРЕМЯ КОЛОШЕНИЯ ЗАМЕЩЕННЫХ И ИЗОГЕННЫХ ЛИНИЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ С ДОМИНАНТНЫМИ АЛЛЕЛЯМИ *Vrn-B1a* И *Vrn-B1c*

© 2012 г. М.В. Емцева, Т.Т. Ефремова, В.С. Арбузова

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия,
e-mail: emtseva@bionet.nsc.ru

Поступила в редакцию 21 ноября 2011 г. Принята к публикации 20 декабря 2011 г.

Изучено время колошения замещенных и изогенных линий мягкой пшеницы с аллелями *Vrn-B1a* и *Vrn-B1c* без яровизации и после 30-суточной яровизации в условиях теплицы и поля. Показано, что без яровизации в теплице и в поле растения с аллелем *Vrn-B1c* выколашивались на несколько дней раньше растений с аллелем *Vrn-B1a*. Однако на яровизацию сильнее реагировали растения с аллелем *Vrn-B1a*, что выражалось в более ускоренном колошении. У гибридов F_1 , полученных от скрещивания изогенных линий, несущих аллели *Vrn-B1c* и *Vrn-B1a*, доминировал более слабый аллель *Vrn-B1a*. Таким образом, получено экспериментальное подтверждение множественного аллелизма гена *Vrn-B1*, контролирующего яровой тип развития пшеницы.

Ключевые слова: замещенные и изогенные линии мягкой пшеницы, доминантные аллели *Vrn-B1a* и *Vrn-B1c*, время колошения.

Введение

Продолжительность вегетационного периода мягкой пшеницы является одним из важных адаптивных признаков и определяет не только продуктивность растений, но и устойчивость их к засухе, низким температурам, болезням и другим стрессовым факторам. На время колошения, кроме факторов внешней среды, наибольшее влияние оказывают три группы генов: гены реакции на яровизацию (*Vrn*), чувствительности к фотопериоду (*Ppd*) и раннеспелости (*Eps*). У пшеницы известны гены *Vrn-A1*, *Vrn-B1* и *Vrn-D1* (ранее *Vrn1*, *Vrn2*, *Vrn3*, совместно их обозначают как локусы *Vrn-1*), локализованные в хромосомах 5AL, 5BL и 5DL (Law *et al.*, 1976; Майстренко, 1992; Worland, 1996; McIntosh *et al.*, 2007), *Vrn-D4* (ранее *Vrn4*) – в хромосоме 5D (Kato *et al.*, 1993) и *Vrn-B3* (ранее *Vrn5*) – в хромосоме 7BS (Law, Wolfe, 1966; Yan *et al.*, 2006).

Пшеницы могут быть классифицированы на яровые, озимые и двуручки. Озимым пшеницам для перехода к колошению необходима яровизация – длительное воздействие низкими поло-

жительными температурами. Яровые растения выколашиваются без яровизации при посеве весной. Озимый тип развития определяется присутствием рецессивных аллелей во всех локусах *Vrn*, яровой тип – наличием доминантного аллеля как минимум одного из генов *Vrn* (Pugsley, 1971). Двуручки способны выколашиваться как при весеннем, так и при осеннем посеве. По мнению А.Ф. Стельмаха (1985, 1986), типичные двуручки имеют один доминантный ген *Vrn-B1* в чувствительном к фотопериоду сорте. Б.В. Ригин с сотрудниками (1985), наоборот, считают, что разница между яровыми пшеницами и двуручками обеспечивается разными аллелями доминантного гена *Vrn-A1*.

Доминантный ген *Vrn-A1* эпистатичен по отношению к остальным генам *Vrn*, и считается, что носители этого гена не чувствительны к яровизации. Доминантные аллели генов *Vrn-B1*, *Vrn-D1* и *Vrn-D4* определяют небольшую чувствительность к яровизации (Pugsley, 1971, 1972). Гены *Vrn* по-разному влияют на длину вегетационного периода. Самыми раннеспелыми являются сорта, несущие доминантный аллель

гена *Vrn-A1*, тогда как сорта с доминантным аллелем в одном только гене *Vrn-B1* – самые позднеспелые. Сорта, несущие доминантный аллель гена *Vrn-D1*, занимают по колошению промежуточное положение между двумя указанными группами, но ближе скорее к растениям с *Vrn-A1*, чем с *Vrn-B1* (Pugsley, 1972; Košner, Pánková, 2004).

Предполагают, что манипулирование длиной вегетационного периода мягкой пшеницы возможно также при использовании доминантных аллелей генов *Vrn* с различным фенотипическим проявлением. Существование множественного аллелизма генов, контролирующего яровой тип развития, показано в первых работах по генетическому изучению этого признака (Tsunewaki, Jenkins, 1961, цит. по: Гончаров, 2002). После обозначения доминантных генов ярового типа развития символом *Vrn* (Pugsley, 1972) и хромосомной локализации трех генов *Vrn1*, *Vrn2*, *Vrn3* в хромосомах 5-й гомеологической группы пшеницы появились работы, подтверждающие эту гипотезу (Snape *et al.*, 1976; Roberts, McDonald, 1984; Майстренко, 1992; Koval, Goncharov, 1998). Для гена *Vrn1* (по современной номенклатуре *Vrn-A1*) было показано наличие двух аллелей, обозначенных *Vrn1a* и *Vrn1b*, у сортов Новосибирская 67 и Пиротрикс 28 соответственно (Koval, Goncharov, 1998; Гончаров, 2002). При этом изогенная линия с аллелем *Vrn1a* выколашивалась примерно на неделю раньше линии с аллелем *Vrn1b*, и носители аллеля *Vrn1a* были не чувствительны к яровизации, в то время как растения со слабым аллелем *Vrn1b* реагировали на яровизацию ускорением колошения. Проведенные молекулярно-генетические исследования подтвердили эти результаты: показано, что сорт Новосибирская 67 имеет аллель *Vrn-A1a*, а Пиротрикс 28 – *Vrn-A1b* (Shcherban *et al.*, 2011).

Множественный аллелизм гена *Vrn-B1* (ранее *Vrn2*) впервые был предположен на основании различия во времени колошения замещенных линий Саратовская 29 (Мироновская 808 5А) и Диамант 2 (Мироновская 808 5А) (Майстренко, 1992). У яровых сортов-доноров Саратовская 29 (С29) и Диамант 2 (Дм2), тип развития которых определяется присутствием доминантных аллелей двух генов (*Vrn-A1* и *Vrn-B1*) и которые не отличаются по времени

колошения из-за присутствия эпистатического гена *Vrn-A1*, хромосома 5А была замещена на хромосому 5А озимого сорта Мироновская 808 (М808) с рецессивным аллелем гена *Vrn-A1*. Таким образом, тип развития полученных замещенных линий определялся одинаково: *vrn-A1 Vrn-B1 vrn-D1*, однако линии были более позднеспелыми, чем сорта-доноры, и линия С29(М808 5А) выколашивалась раньше линии Дм2(М808 5А) в среднем на 12 дней. Поэтому был сделан вывод о наличии у гена *Vrn2* двух аллелей, *Vrn2a^S* (*Vrn-B1c*) и *Vrn2b^D* (*Vrn-B1a*), от сортов С29 и Дм2 соответственно. Растения с аллелем *Vrn-B1c* выколашивались раньше растений с аллелем *Vrn-B1a*.

Для детального изучения влияния разных доминантных аллелей гена *Vrn-B1* на продолжительность вегетационного периода были созданы две линии озимого сорта Sava с межсортовым замещением хромосомы 5В на таковую от яровых сортов С29 и Дм2 – Sava(С29 5В) и Sava(Дм2 5В) и две изогенные линии озимого сорта Безостая 1 (Без1) с доминантными аллелями *Vrn-B1c* и *Vrn-B1a* от этих же сортов, обозначенные i:Без1*Vrn-B1c* и i:Без1*Vrn-B1a* соответственно (Efremova *et al.*, 2011). В этих линиях разные доминантные аллели гена *Vrn-B1* находятся в одинаковой генотипической среде, что позволяет более точно выявить различия в продолжительности периода от всходов до колошения. Однако эффекты разных аллелей на время колошения и реакцию на яровизацию с использованием полученных нами линий до конца не изучены.

В последние годы аллели локуса *Vrn-1* были клонированы и охарактеризованы на молекулярном уровне. У мягкой пшеницы было выявлено три доминантных аллеля *Vrn-A1*, которые ассоциированы с инсерцией (I) и делецией (II) в промоторной области и с большой делецией в составе первого интрона (III) и обозначены *Vrn-A1a*, *Vrn-A1b* и *Vrn-A1c* соответственно (Yan *et al.*, 2004; Fu *et al.*, 2005). У твердой пшеницы обнаружены аллели *Vrn-A1b*, *c*, *d*, *e*, *f*, *g*, *h*, которые также имеют инсерции или делеции в промоторе или первом интроне (Yan *et al.*, 2004; Dubcovsky *et al.*, 2006). Кроме того, выявлены 3 мутантные формы гена *Vrn-B1*, являющиеся доминантными аллелями. Доминантный аллель *Vrn-B1a* отличается от рецессивного *vrn-B1*

большой делецией 6850 п.н. в составе первого интрона (Fu *et al.*, 2005), второй аллель *Vrn-B1b* отличается от *Vrn-B1a* одной нуклеотидной заменой и небольшой делецией 36 п.н. в первом интроне (Santra *et al.*, 2009), третья мутация (аллель *Vrn-B1c*) связана с делецией 820 п.н. и дупликацией 431 п.н., перемещенной в начало этой делеции, в первом интроне. При этом первичная структура аллеля *Vrn-B1c* сохраняла высокую степень гомологии как с аллелем *Vrn-B1a*, так и с другими изученными аллелями данного гена (Shcherban *et al.*, 2011).

Целью данного исследования является выяснение различий во времени колошения и реакции на яровизацию у замещенных линий на основе сорта Sava и изогенных линий на основе сорта Без1 с двумя разными доминантными аллелями гена *Vrn-B1*, а также изучение наследования признака период «всходы–колошение» у гибридов F₁ и F₂, полученных от скрещивания двух изогенных линий.

Материалы и методы

Материалом для исследования послужили сорта и линии, представленные в табл. 1. Схемы получения замещенных линий сорта Sava и изогенных линий сорта Без1 описаны ранее (Efremova *et al.*, 2011), где представлены результаты изучения замещенных линий сорта Sava

после 5 и 6 беккроссов (BC₅–BC₆). В настоящем исследовании нами были изучены замещенные линии BC₇.

Анализ времени колошения и реакции на яровизацию проводился в теплице в 2010 г. Для этого 4-дневные проростки замещенных и изогенных линий яровизировались в течение 30 дней в темноте при температуре +1 °С. Неяровизированные и яровизированные проростки по 20 шт. каждого сорта или линии высаживали в теплице одновременно и выращивали при 14-часовом искусственном дне при температуре +23 ± 3 °С. Время до колошения считали с момента высадки. Кроме того, время колошения сортов, замещенных и изогенных линий, а также гибридов F₁ и F₂, полученных от скрещивания изогенных линий, изучали в поле в условиях Новосибирска. Каждую линию высеяли 24 мая 2010 г. в количестве 60 зерен. Достоверность различий по числу дней до колошения у линий, несущих аллели *Vrn-B1a* и *Vrn-B1c*, рассчитывали с помощью *t*-критерия Стьюдента.

Для определения генотипа изогенных и замещенных линий по генам *Vrn* были использованы изогенные линии А.Т. Pugsley по сорту Triple Dirk (TD): TD D с геном *Vrn-A1*, TD B с *Vrn-B1*, TD E с *Vrn-D1* и TD F с *Vrn-D4*. В качестве рецессивной формы был использован озимый сорт Филатовка. Размножение гибридов F₁ проводили в теплице, а гибриды F₂ высевали в

Таблица 1

Материал исследования

Сорт, линия	Гаплоидный генотип по локусам <i>Vrn-1</i>	Литературный источник
Саратовская 29 (C29)	<i>Vrn-A1 Vrn-B1c vrn-D1</i>	Майстренко, 1992
Диамант 2 (Дм2)	<i>Vrn-A1 Vrn-B1a vrn-D1</i>	—
Омская 9	<i>vrn-A1 Vrn-B1c vrn-D1</i>	http://www.vurv.cz ; Shcherban <i>et al.</i> , 2012
Federation	<i>vrn-A1 Vrn-B1c vrn-D1</i>	—
Mara	<i>vrn-A1 Vrn-B1a vrn-D1</i>	—
Triple Dirk B	<i>vrn-A1 Vrn-B1a vrn-D1</i>	Pugsley, 1972; Fu <i>et al.</i> , 2005
C29(M808 5A)	<i>vrn-A1 Vrn-B1c vrn-D1</i>	Майстренко, 1992
Дм2(M808 5A)	<i>vrn-A1 Vrn-B1a vrn-D1</i>	—
Sava(C29 5B) BC ₇ F ₄	<i>vrn-A1 Vrn-B1c vrn-D1</i>	
Sava(Дм2 5B) BC ₇ F ₄	<i>vrn-A1 Vrn-B1a vrn-D1</i>	
i:Без1 <i>Vrn-B1c</i> BC ₈ F ₃	<i>vrn-A1 Vrn-B1c vrn-D1</i>	Efremova <i>et al.</i> , 2011; Shcherban <i>et al.</i> , 2011
i:Без1 <i>Vrn-B1a</i> BC ₈ F ₃	<i>vrn-A1 Vrn-B1a vrn-D1</i>	—

поле в 2010–2011 гг. по 140 зерен в каждой комбинации и проводили разделение по фенотипу на яровые и озимые формы в конце вегетации. К озимым относили растения, которые не выколосились или не вышли в трубку после 100 дней от всходов (последние даты наблюдений – 10–15 сентября). Для определения соответствия фактически полученных результатов теоретически ожидаемым использовали критерий χ^2 .

Анализ метафазы I мейоза дисомных растений замещенных линий сорта Sava (BC_7F_{3-4}) проводили на временных давленных ацетокарминовых препаратах материнских клеток пыльцы. Для этого пользовались микроскопом Axioskop 2 фирмы «Zeiss». Микрофотографии делали цифровой камерой фирмы «Микромед».

Результаты и обсуждение

Мейоз у растений замещенных линий Sava(C29 5B) и Sava(Дм2 5B) (BC_7F_4)

Установлены высокая стабильность мейоза и правильная конъюгация хромосом у растений замещенных линий. У замещенной линии

Sava(C29 5B) из 27 изученных растений 26 растений имели в метафазе I 21 бивалент закрытого типа (рис. 1), и только одно растение имело конфигурацию $20''+1'$ (моносомик). У линии Sava(Дм2 5B) все 42 изученных растения имели 21 бивалент. Цитологически отобранные дисомные растения BC_7F_4 были включены в эксперимент по изучению времени колошения.

Определение генотипа замещенной и изогенных линий по генам *Vrn*

Отсутствие расщепления при скрещивании с тестером TD В и дигенное расщепление с остальными тестерами TD D, TD E и TD F, а также моногенное расщепление с озимым тестером указывают на то, что яровой тип развития замещенной линии Sava(Дм2 5B) и изогенных линий *i:Без1 Vrn-B1c* и *i:Без1 Vrn-B1a* контролируется моногенно – доминантным геном *Vrn-B1* (табл. 2). Выделение родоначальных дисомных растений замещенной линии Sava(C29 5B) было проведено позже, поэтому данная линия не была включена в этот эксперимент.

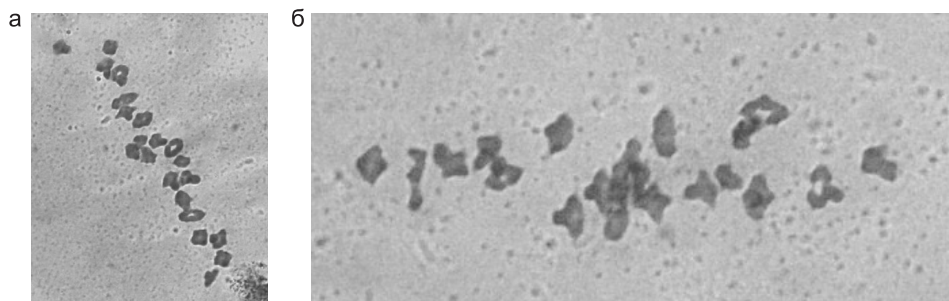


Рис. 1. Метафаза I мейоза (21 бивалент) у замещенных линий.

а – Sava(C29 5B); б – Sava(Дм2 5B).

Таблица 2

Идентификация числа генов *Vrn* и определение генотипа у замещенной линии на основе сорта Sava и изогенных линий на основе сорта Безостая 1

Линии	Расщепление на яровые/озимые формы гибридов F_2 от скрещивания изучаемых линий с изогенными линиями сорта Triple Dirk и рецессивным тестером					Генотип*
	TD D (<i>Vrn-A1</i>) 15:1	TD B (<i>Vrn-B1</i>)	TD E (<i>Vrn-D1</i>) 15:1	TD F (<i>Vrn-D4</i>) 15:1	Озимый сорт 3:1	
<i>i:Без1 Vrn-B1c</i>	144:6	142:0	133:4	139:4	–	<i>Vrn-B1</i>
<i>i:Без1 Vrn-B1a</i>	128:5	124:0	127:7	132:5	114:29	<i>Vrn-B1</i>
Sava(Дм2 5B)	119:11	122:0	111:8	107:7	–	<i>Vrn-B1</i>

* Указан только доминантный ген, определяющий яровой тип развития.

**Время колошения
замещенных и изогенных линий
в теплице без яровизации
и после 30-суточной яровизации**

Сопоставление продолжительности периода до колошения у растений замещенных и изогенных линий в условиях теплицы указывает на достоверное влияние на этот признак разных аллелей гена *Vrn-B1*. Так, замещенные линии C29(M808 5A), Sava(C29 5B) и изогенная линия i:Без1*Vrn-B1c*, выколашивались за 44, 55 и 60 дней соответственно (рис. 2). Линии с аллелем *Vrn-B1a* – Дм2(M808 5A), Sava(Дм2 5B) и i:Без1*Vrn-B1a* колосились несколько позже, а именно за 60, 57 и 63 дня соответственно. Таким образом, различие по продолжительности периода «всходы–колошение» между линиями с аллелями *Vrn-B1c* и *Vrn-B1a* составило 16 ($P > 0,999$), 2 ($P > 0,99$) и 3 ($P > 0,99$) дня у линий C29(M808 5A) и Дм2(M808 5A), замещенных линий на основе сорта Sava и изогенных линий на основе сорта Без1 соответственно. Сорта-доноры C29 и Дм2, яровой тип развития которых контролируется дигенно (табл. 1), не различались достоверно между собой по датам колошения (47 и 46 дней соответственно).

В наших предыдущих исследованиях в условиях Новосибирска и Казахстана (Efremova *et al.*, 2011) также был показан значимый фенотипический эффект двух аллелей, *Vrn-B1c* и *Vrn-B1a*, на время колошения. При этом разница между замещенными и изогенными линиями была значительно больше – до 10 и более дней, что, вероятно, связано с различными условиями выращивания при проведении этих экспериментов.

Все 6 линий достоверно реагировали на яровизацию ускорением колошения. После 30-суточной яровизации у замещенных линий C29(M808 5A) и Дм2(M808 5A) разница между аллелями *Vrn-B1c* и *Vrn-B1a* сократилась с 15 до 10 дней ($P > 0,999$), а у замещенных линий на основе сорта Sava и изогенных линий на основе сорта Без1 растения с аллелем *Vrn-B1c* стали выколашиваться на 1 и 6 дней ($P > 0,999$) позже, чем растения с аллелем *Vrn-B1a* (рис. 2). У изогенных линий на основе сорта Без1 разница по реакции на яровизацию между расте-

ниями с аллелями *Vrn-B1a* и *Vrn-B1c* была 9 дней, а у замещенных линий C29(M808 5A) и Дм2(M808 5A) и замещенных линий на основе сорта Sava эта разница составила 6 и 3 дня соответственно. Сильнее всех реагировала на яровизацию изогенная линия i:Без1*Vrn-B1a* (15 дней). Таким образом, без яровизации растения с аллелем *Vrn-B1c* выколашивались раньше растений с *Vrn-B1a*, но на яровизацию ускорением колошения сильнее реагировали растения с аллелем *Vrn-B1a*. Это подтверждает данные О.И. Майстренко (1992) о разной реакции на яровизацию носителей двух аллелей: более позднеспелые генотипы сильнее реагируют на яровизацию.

**Продолжительность периода
«всходы–колошение» у сортов,
замещенных и изогенных линий
в полевых условиях**

Время колошения сортов-доноров C29 и Дм2 в условиях поля в 2010 г. различалось и составило 46 и 51 день соответственно (рис. 3). Замещенные линии C29(M808 5A) и Дм2(M808 5A), созданные на основе этих сортов, выколашивались позже рекуррентных родителей, через 50 и 60 дней после всходов соответственно, и разница между линиями составила 10 дней ($P > 0,999$). Замещенные линии на основе сорта Sava и изогенные линии на основе сорта Без1 с аллелем *Vrn-B1c* также выколашивались раньше линий, несущих аллель *Vrn-B1a*. Для замещенных линий эта разница составила 4 дня (60 и 64 дня у Sava(C29 5B) и Sava(Дм2 5B) соответственно), а для изогенных линий – 5 дней (54 и 59 дней у i:Без1*Vrn-B1c* и i:Без1*Vrn-B1a* соответственно). При этом оказалось, что в целом изогенные линии сорта Без1 являются более скороспелыми, чем замещенные линии сорта Sava, хотя в предыдущем эксперименте (Efremova *et al.*, 2011) в условиях короткого дня эти линии не различались по скороспелости. Вероятно, это различие между замещенными и изогенными линиями связано с взаимодействием генов *Vrn* и *Ppd* и реакцией конкретного генотипа на условия среды. Известно, что оба сорта-реципиента Sava и Без1 имеют доминантные аллели гена *Ppd-D1* и не чувствительны к длине дня (Worland *et al.*, 1998; McIntosh *et al.*,

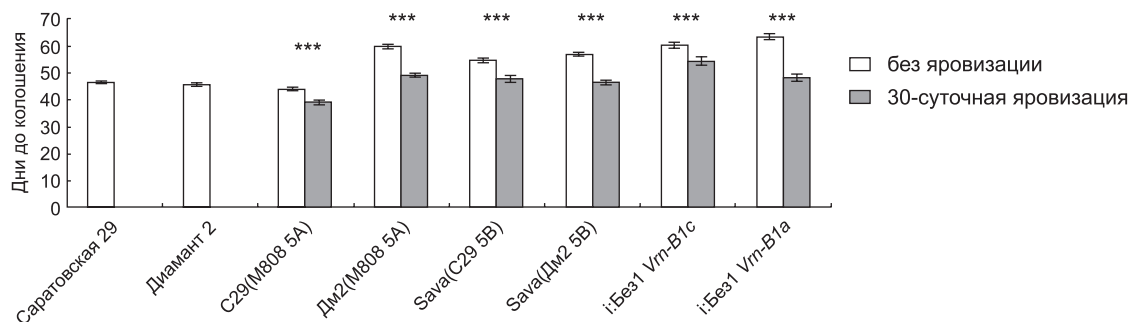


Рис. 2. Время колошения и реакция на 30-суточную яровизацию замещенных и изогенных линий с аллелями *Vrn-B1c* и *Vrn-B1a* и время колошения у сортов-доноров (теплица 2010 г.).

*** Достоверные различия ($P > 0,999$).

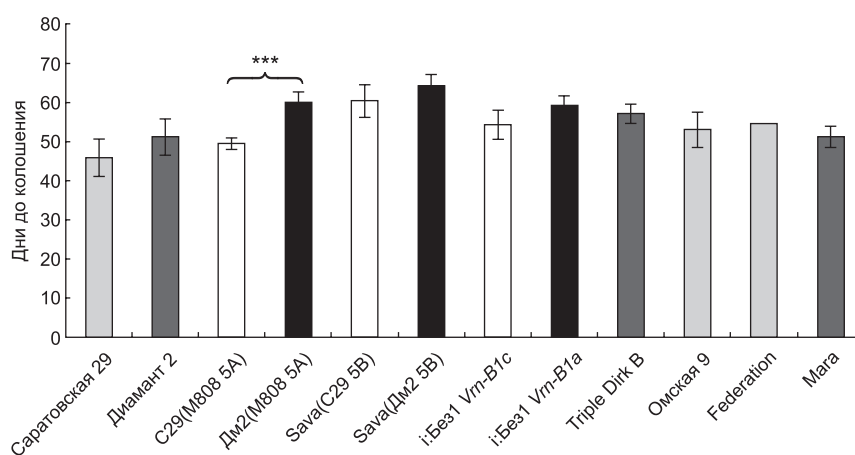


Рис. 3. Число дней от всходов до колошения у сортов, замещенных и изогенных линий с аллелями *Vrn-B1c* и *Vrn-B1a* (белый, светло-серый цвет – носители *Vrn-B1c*, черный, темно-серый цвет – носители *Vrn-B1a*) (Новосибирск, поле 2010 г.).

*** Достоверные различия ($P > 0,999$).

2010). При этом исследователи отмечали, что генотипы с доминантными аллелями генов *Ppd* являются более скороспелыми при условиях как короткого, так и длинного дня (Гончаров, 2002), поэтому для окончательного объяснения этого вопроса необходимо дальнейшее изучение полученных нами линий в различных условиях выращивания. Но факт влияния аллелей *Vrn-B1a* и *Vrn-B1c* на различия во времени колошения пшеницы не вызывает сомнения.

Результаты изучения сортов Омская 9, Federation, Mara и линии TD В показывают, что генотипы с доминантным аллелем в одном только гене *Vrn-B1* выколашиваются в среднем на 8 дней позже по сравнению с сортами-носителями доминантного аллеля *Vrn-B1* C29 и

Дм2. Колошение сортов Омская 9 и Federation, несущих аллель *Vrn-B1c* (таб. 1), наступало на 53–54-й день, а у изогенной линии TD В (*Vrn-B1a*) – на 57-й день. Эффект слабого доминантного аллеля *Vrn-B1a* у сорта Mara (таб. 1) в этом эксперименте не был показан, сорт колошился раньше, чем сорта Омская 9 и Federation, – на 51-й день, хотя в экспериментах 2005–2006 гг. (Efremova *et al.*, 2011) сорт Mara отличался позднеспелостью, как и линия TD В. Различия между указанными сортами по времени колошения обусловлены не только эффектами гена *Vrn-B1*, но и действием других генетических систем, о которых говорилось выше (*Ppd* и *Eps*), а также действием факторов внешней среды, таких, как интенсивность света и питания.

Продолжительность периода «всходы–колошение» у гибридов F₁ и F₂, полученных от скрещивания изогенных линий, несущих аллели *Vrn-B1a* и *Vrn-B1c*

Продолжительность периода «всходы–колошение» у изогенных линий *i:Bez1 Vrn-B1c* и *i:Bez1 Vrn-B1a* составила 54 и 57 дней соответственно (рис. 4). У гибридов F₁ между этими линиями она была близка к значению более позднеспелой линии и составила 58 дней. Это может означать доминирование в первом поколении позднеспелости, определяемой аллелем *Vrn-B1a*.

Во втором поколении от скрещивания двух изогенных линий ни одного озимого растения не выщепилось (рис. 5), что свидетельствует об аллельности локусов *Vrn-B1c* и *Vrn-B1a*. При анализе популяции F₂ видно, что растения распределяются на рано колосящиеся (48–53 дня, как у линии *i:Bez1 Vrn-B1c*) и поздно колосящиеся (60 и более дней, как у линии *i:Bez1 Vrn-B1a*), а также промежуточный класс (от 54 до 60 дней), причем большую часть растений можно отнести к позднеспелым генотипам, как у гибридов F₁.

Результаты проведенного генетического анализа подтвердили присутствие в изогенных линиях на основе сорта Без1 двух аллелей, *Vrn-B1a* и *Vrn-B1c*, с разным фенотипическим эффектом. Однако для окончательного доказательства множественного аллелизма гена *Vrn-B1* необходимо провести тест на аллелизм.

Таким образом, с помощью полученных замещенных и изогенных линий пшеницы

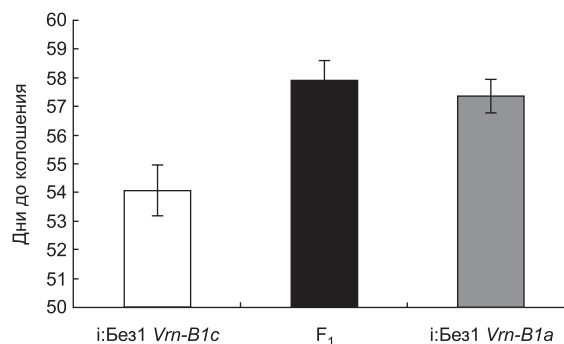


Рис. 4. Длительность периода от всходов до колошения у изогенных линий с аллелями *Vrn-B1c* и *Vrn-B1a* и гибридов F₁ между ними (Новосибирск, поле 2010 г.).

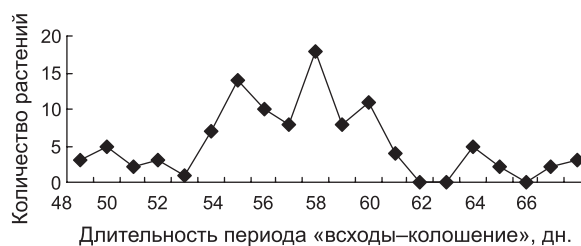


Рис. 5. Распределение по времени колошения гибридов F₂, полученных от скрещивания изогенных линий, несущих разные аллели гена *Vrn-B1* (Новосибирск, поле 2010 г.).

экспериментально доказано наличие у гена *Vrn-B1* двух аллелей, влияющих на различие во времени колошения. Созданные замещенные и изогенные линии могут быть использованы в качестве уникальных моделей для изучения молекулярно-генетических механизмов регуляции продолжительности вегетационного периода мягкой пшеницы.

Авторы выражают благодарность рецензентам, а также Н.П. Гончарову за помощь при подготовке статьи. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ (№ 10-04-00661а), Программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Биологическое разнообразие» № 26/28 и интеграционного проекта Президиума СО РАН № 60.

Литература

Гончаров Н.П. Сравнительная генетика пшениц и их сородичей. Новосибирск: Сиб. универ. изд-во, 2002. 252 с.
 Майстренко О.И. Использование цитогенетических методов в исследовании онтогенеза мягкой пшеницы // Онтогенетика высших растений: Сб. науч. тр. Ин-т генетики Республики Молдова. Кишинев: Штиинца, 1992. С. 98–114.
 Ригин Б.В., Звейнек С.Н., Булавка Н.В. Генотипы образцов яровой мягкой пшеницы по генам, контролирующим тип развития // Каталог мировой коллекции Всесоюзного института растениеводства им. Н.И. Вавилова. 1985. Т. 427. С. 38.
 Стельмах А.Ф. Генотип типичных двуручек мягкой пшеницы по локусам *Vrn1-3* и *Ppd1-3* // Науч.-техн. бюлл. Одесса: ВСГИ, 1985. Т. 2 (56). С. 15–20.
 Стельмах А.Ф. Типичные двуручки мягкой пшеницы и их генетическая природа // С.-х. биология. М., 1986. Т. 2. С. 22–30.
 Dubcovsky J., Loukouianov A., Fu D.L. et al. Effect of photoperiod on the regulation of wheat vernalization genes *VRN1* and *VRN2* // Plant. Mol. Biol. 2006. V. 60. P. 469–480.

- Efremova T.T., Arbutzova V.S., Leonova I.N., Makhmudova K. Multiple allelism in the *Vrn-B1* locus of common wheat // Cereal Res. Commun. 2011. V. 39. No 1. P. 12–21.
- Fu D., Szucs P., Yan L. *et al.* Large deletions within the first intron in *VRN-1* are associated with spring growth habit in barley and wheat // Mol. Gen. Genomics. 2005. V. 273. P. 54–65.
- Kato K., Nakagawa K., Kuno H. Chromosomal location of the genes for vernalization response, *Vrn2* and *Vrn4*, in common wheat, *Triticum aestivum* L. // Wheat Inform. Serv. 1993. V. 76. P. 53.
- Košner J., Pánková K. Chromosome substitutions with dominant loci *Vrn-1* and their effect on developmental stages of wheat // Czech J. Genet. Plant Breed. 2004. V. 40. No 2. P. 37–44.
- Koval S.F., Goncharov N.P. Multiple allelism at the *VRN1* locus of common wheat // Acta Agron. Hung. 1998. V. 46. No 2. P. 113–119.
- Law C.N., Wolfe M.S. Location of genetic factors for mildew resistance and ear emergence time on chromosome 7B of wheat // Canad. J. Genet. Cytol. 1966. V. 8. No 3. P. 462–470.
- Law C.N., Worland A.J., Giorgi B. The genetic control of ear-emergence time by chromosomes 5A and 5D of wheat // Heredity. 1976. V. 36. P. 49–58.
- McIntosh R.A., Devos K.M., Dubcovsky J. *et al.* Catalogue of gene symbols for wheat (supplement) // 2007. Available at: <http://shigen.ac.jp/wheat/komugi>.
- McIntosh R.A., Dubcovsky J., Rogers W.J. *et al.* Catalogue of gene symbols for wheat: 2010 supplement. Available at: <http://shigen.ac.jp/wheat/komugi>.
- Pugsley A.T. A genetic analysis of the spring-winter habit of growth in wheat // Austral. J. Agric. Res. 1971. V. 22. P. 21–31.
- Pugsley A.T. Additional genes inhibiting winter habit in wheat // Euphytica. 1972. V. 21. P. 547–552.
- Roberts D.W.A., McDonald M.D. Evidence for the multiplicity of alleles at *Vrn1*, the winter-spring habit locus in common wheat // Can. J. Genet. Cytol. (Genome). 1984. V. 26. P. 191–193.
- Santra D.K., Santra M., Allan R.E. *et al.* Genetic and molecular characterization of vernalization genes *Vrn-A1*, *Vrn-B1* and *Vrn-D1* in spring wheat germplasm from the pacific northwest region of the USA // Plant Breed. 2009. V. 128. P. 576–584.
- Shcherban A.B., Efremova T.T., Salina E.A. Identification of a new *Vrn-B1* allele using two near-isogenic wheat lines with difference in heading time // Mol. Breeding. 2011. DOI 10.1007/s11032-011-9581-y.
- Shcherban A.B., Emtseva M.V., Efremova T.T. Molecular genetical characterization of vernalization genes *Vrn-A1*, *Vrn-B1* and *Vrn-D1* in spring wheat germplasm from Russia and adjacent regions // Cereal Res. Commun. 2012. (in press)
- Snape J.W., Law C.N., Worland A.J. Chromosome variation for loci controlling ear emergence time on chromosome 5A of wheat // Heredity. 1976. V. 37. P. 335–340.
- Stelmakh A.F. Genetic effects of *Vrn* genes on heading date and agronomic traits in bread wheat // Euphytica. 1993. V. 65. P. 53–60.
- Tsunewaki K., Jenkins C. Monosomic and conventional gene analyses in common wheat, II. Growth habit and awnedness // Japan. J. Genet. 1961. V. 36. 9-12. P. 428–443.
- Worland A.J. The influence of flowering time genes on environmental adaptability in European wheats // Euphytica. 1996. V. 89. P. 49–57.
- Worland A.J., Börner A., Korzun V. *et al.* The influence of photoperiod genes on the adaptability of European winter wheats // Euphytica. 1998. V. 100. P. 385–394.
- Yan L., Helguera M., Kato K. *et al.* Allelic variation at the *VRN-1* promoter region in polyploid wheat // Theor. Appl. Genet. 2004. V. 109. P. 1677–1686.
- Yan L., Fu D., Li C. *et al.* The wheat and barley vernalization gene *Vrn-3* is an orthologue of FT // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2006. V. 104. P. 19581–19586.

HEADING TIME OF SUBSTITUTION AND NEAR-ISOGENIC LINES OF COMMON WHEAT WITH DOMINANT ALLELES *Vrn-B1a* AND *Vrn-B1c*

M.V. Emtseva, T.T. Efremova, V.S. Arbutzova

Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia, e-mail: emtseva@bionet.nsc.ru

Summary

Heading time of substitution and near-isogenic lines (NILs) with *Vrn-B1a* and *Vrn-B1c* alleles was studied without vernalization and after 30-day vernalization in a greenhouse and in the field. Without vernalization, both in a greenhouse and in the field, plants with the *Vrn-B1c* allele headed several days earlier than plants with *Vrn-B1a*. However, plants with *Vrn-B1a* responded to vernalization by more pronounced heading acceleration than *Vrn-B1c* plants. The weak *Vrn-B1a* allele dominated in F₁ hybrids from the cross between two NILs with the *Vrn-B1c* and *Vrn-B1a* alleles. These observations confirm the multiple allelism of the *Vrn-B1* gene, responsible for the spring growth habit in wheat.

Key words: substitution and near-isogenic lines of common wheat, dominant *Vrn-B1a* and *Vrn-B1c* alleles, heading time.