



Разработка новых SSR-маркеров к локусам гомеологичных генов *WFZP* на основе изучения строения и локализации микросателлитов в богатых генами районах хромосом 2AS, 2BS, 2DS мягкой пшеницы

О.Б. Добровольская^{1, 2}, К. Понт³, Ю.Л. Орлов^{1, 2}, Ж. Сальс³

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск, Россия

³ Национальный институт сельскохозяйственных исследований (INRA) – Университет Блеза Паскаля, объединенный исследовательский отдел-1095, Клермон-Ферран, Франция

Микросателлиты, или короткие tandemные (простые) повторы, широко распространены в геномах эукариот, включая геномы растений. Особенности строения и локализации микросателлитных локусов определяют их потенциал в качестве молекулярно-генетических маркеров и могут оказывать влияние на предполагаемые функции микросателлитов в важных биологических процессах. Идентификация и изучение распределения микросателлитных локусов в богатых генами районах генома мягкой пшеницы и разработка на их основе новых микросателлитных маркеров представляют практический интерес и важны для исследования организации генома мягкой пшеницы. Последовательности ВАС-клонов, содержащие гомеологичные гены *WFZP* мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L., контролирующие развитие колоса, послужили основой для идентификации и локализации микросателлитных локусов в богатых генами районах хромосом 2AS, 2BS и 2DS. В изученных последовательностях наиболее распространены ди- и тринуклеотидные микросателлитные повторы. Среди динуклеотидных мотивов преобладают AG, GA/TC; динуклеотидные повторы встречаются в некодирующих областях генов, мобильных элементах и неаннотированных последовательностях ДНК. Большая часть тринуклеотидных повторов ассоциирована с мобильными генетическими элементами. Обнаружено, что гомеологичные микросателлитные локусы располагаются либо в генах, либо в неаннотированных последовательностях ДНК. Сравнение структуры гомеологичных локусов показало, что дивергенция в них связана как с изменением числа повторов, так и с нуклеотидными заменами. Разработаны новые микросателлитные маркеры, которые на генетических картах локализованы с генами *WFZP-A-B-D* и могут использоваться для маркирования этих генов в молекулярно-генетических исследованиях и в контролируемой маркерами селекции.

Ключевые слова: микросателлитные локусы; SSR-маркеры; ВАС-клон; мягкая пшеница; *WFZP*.

Development of new SSR markers for homoeologous *WFZP* loci based on the study of structure and location of microsatellites in gene-rich regions of chromosomes 2AS, 2BS, 2DS

O.B. Dobrovolskaya^{1, 2}, C. Pont³, Yu.L. Orlov^{1, 2}, J. Salse³

¹ Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

² Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

³ Institut National de la Recherche Agronomique-Université Blaise Pascal Unité Mixte de Recherche-1095, 63100 Clermont-Ferrand cedex 2, France

Microsatellites, or simple sequence repeats (SSRs), are ubiquitous in genomes of eukaryotes, including plant genomes. The structure and location of SSR loci determine their potential as molecular genetic markers and may have impact on the potential function of microsatellites in important biological processes. Identification and study of the distribution of SSR loci in gene-rich regions of the bread wheat genome and development of novel SSR markers based on these data are of practical interest, being important for the study of bread wheat genome organization. Bread wheat BAC-clone sequences containing homoeologous *WFZP* genes that control spikelet development served as the base for the identification and localization of SSR loci in gene-rich regions of chromosomes 2AS, 2BS, and 2DS. It was found that di- and trinucleotide motifs were predominant. The most common dinucleotide motifs were AG and GA/TC. They were distributed in noncoding regions of genes, transposable elements (TEs) and unannotated sequences. Most identified trinucleotide motifs were associated with transposable elements. Homoeologous SSR loci



were found in either genes or unannotated sequences. Comparison of these loci showed that the divergence in their structure was caused both by changes in repeat number and nucleotide substitutions. New SSR markers were developed and mapped. On the genetic maps of chromosomes 2A, 2B и 2D, they collocated with the *WFZP-A-B-D* genes. Thus, they can be used for gene tagging in molecular research and in marker-assisted selection.

Key words: microsatellite loci; SSR markers; BAC-clones; bread wheat; *WFZP*.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ?

Добровольская О.Б., Понт К., Орлов Ю.Л., Сальс Ж. Разработка новых SSR-маркеров к локусам гомеологичных генов *WFZP* на основе изучения строения и локализации микросателлитов в богатых генами районах хромосом 2AS, 2BS, 2DS мягкой пшеницы. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2015;19(3):303-309.

HOW TO CITE THIS ARTICLE?

Dobrovolskaya O.B., Pont C., Orlov Yu.L., Salse J. Development of new SSR markers for homoeologous *WFZP* loci based on the study of structure and location of microsatellites in gene-rich regions of chromosomes 2AS, 2BS, 2DS. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii – Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2015;19(3):303-309.

Микросателлиты, или короткие простые повторы (simple sequence repeats, SSR), – это участки ДНК, состоящие из tandemно повторенных коротких (1–6 п. н.) элементов (мотивов). Микросателлитные повторы классифицируют в зависимости от строения: 1) совершенные микросателлитные повторы представляют собой непрерывающуюся последовательность, состоящую из одинаковых мотивов; 2) несовершенные микросателлитные повторы состоят из блоков одинаковых мотивов, разделенных несколькими неповторяющимися основаниями; 3) сложные микросателлиты, или компаунды, представляют блоки из мотивов одного или разных типов, разделенных не более чем 100 п. н. В зависимости от длины микросателлиты бывают двух классов, класс I (≥ 20 п. н.) и класс II (≤ 19 п. н.) (Temnykh et al., 2001). Частота возникновения мутаций в микросателлитных локусах существенно превышает ожидаемую частоту спонтанного мутагенеза (Wierdl et al., 1997; Thuillet et al., 2002). Вариабельность SSR-локусов связана, прежде всего, с изменением числа простых повторов и возникает в результате ошибок репликации ДНК из-за «проскальзывания» ДНК-полимеразы или неравного кроссинговера (Sia et al., 1997). Обнаружено, что вариабельность микросателлитных локусов коррелирует с их длиной. Так, микросателлиты класса I более полиморфны, чем микросателлиты класса II (Temnykh et al., 2001; Webster et al., 2002). Превращение совершенных микросателлитов в несовершенные или компаунды стабилизирует их, вследствие чего они становятся менее вариабельными (Thuillet et al., 2002).

Микросателлиты широко распространены в геномах эукариот (Tautz et al., 1984); показано, что они составляют около 0,69 % генома риса (Grover et al., 2007). Микросателлитные локусы расположены как в кодирующих, так и в некодирующих областях генома, при этом плотность и распределение микросателлитов различных типов в разных фракциях генома неодинаковы (Li et al., 2002; Morgante et al., 2002; Grover et al., 2007).

Микросателлиты широко используют для анализа геномов растений, разработанные на их основе ДНК-маркеры являются одними из самых востребованных

маркеров в молекулярной генетике растений. Наиболее важной областью их применения является молекулярно-генетическое картирование, кроме того, они незаменимы в изучении генетического разнообразия и филогении близкородственных таксонов и представляют интерес для использования в программах по маркер-контролируемой селекции (Ganal, Röder, 2007). Это связано с их следующими качествами: широким распространением в геноме, мультиаллельностью, кодоминантной природой наследования, высокой воспроизводимостью результатов и возможностью автоматизировать генотипирование. Микросателлитные маркеры, полученные на основе геномных библиотек, называют геномными (genomic SSR, gSSR). Первый крупный пул микросателлитных маркеров пшеницы был получен М. Родер с соавт. в 1998 г. на основе геномной ДНК-библиотеки мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. (Röder et al., 1998). Другой путь создания микросателлитных маркеров – поиск *in silico* микросателлитных локусов в экспрессируемых последовательностях ДНК (expressed sequence tags, EST) и разработка на их основе маркеров. Такие маркеры называют EST-микросателлитами. Оба типа маркеров широко используются для картирования генов и геномов мягкой пшеницы и ее сородичей (Salina et al., 2006; Ganal, Röder, 2007; Леонова и др., 2008; Добровольская и др., 2009; Dobrovolskaya et al., 2011). В настоящее время использование накопленных массивов данных, полученных в результате выполнения проектов по секвенированию геномов растений, представляет новые возможности для идентификации микросателлитных последовательностей и разработки новых микросателлитных маркеров. BES (BACend sequences)-SSR – новый тип микросателлитных маркеров, полученных в результате концевое секвенирования BAC-клонов (bacterial artificial chromosome). Он широко применяется для интеграции физических и генетических карт растений, в том числе мягкой пшеницы (Pauc et al., 2008). Определение референсной последовательности хромосомы 3B (Choulet et al., 2014) и получение результатов черного секвенирования изолированных хромосом мягкой пшеницы (IWGSC, 2014) позволили сделать важные выводы о структурной и функциональной организации генома

Таблица 1. Микросателлитные маркеры

Маркер	Мотив	Праймеры	Полиморфизм (аллели, п.н.)
CS248B13-1	(AG)16	F: 5'-CTCCAAGAAGATCGAGGTGAACAT-3' R: 5'-TTGTTACCCCTACCGATGATGTGTG-3'	163 ⁸ , 167 ^{1, 2, 3, 7} 171 ^{5, 6} , 175 ⁹
CS248B13-2	(AT)11	F: 5'-GTGCACTTTTGACCTCCCTACACT-3' R: 5'-ATTTTGGGTTAAGTGGACGTCAGCA-3'	432 NP
CS248B13-4	(AGCC)4	F: 5'-CGCTGACTCTACACCTTACCTCGT-3' R: 5'-ACTTTTAATCGAATCGCACACG-3'	406 NP
CS248B13-3	(GCC)4(GCG)4	F: 5'-CGAGCTACATTTAGTGCATCTGGA-3' R: 5'-TGACCGCTTTAGAGCCTTG-3'	427 NP
CS184F24-1	(TC)15	F: 5'-CCATGGTGATGTGTGAGTAGTTC-3' R: 5'-GTCGTAGAGTAAGGACACCGCAAT-3'	367 ^{2, 6, 7, 9} 371 ^{1, 3, 4, 5, 8}
CS305H5-1	(TA)20	F: 5'-ACAATGATGCAATGAAGGAACAA-3' R: 5'-CGGGTTTATTCTGATGAGTTAG-3'	301 ^{1, 2, 3} , 325 ^{6, 7, 9} 334 ⁸ , null ^{4, 5}
CS305H5-2	(GAG)8	F: 5'-ACTACACCGACACCAACGTCTTC-3' R: 5'-GAAGACTAAGGCATGACTTGGAGG-3'	351 NP

NP – непалиморфный фрагмент указанного размера; цифры верхнего индекса обозначают линии и сорта мягкой пшеницы, у которых данные аллели обнаружены: ^{1, 2, 3, 4, 5} – линии Ruc163, Ruc167, So149, Ruc204, Skle128 (Dobrovolskaya et al., 2009, 2015); ^{6, 7, 8, 9} – сорта Саратовская 29, Скала, Чайниз Спринг и Ренан соответственно.

мягкой пшеницы. Более 5 тыс. известных микросателлитных маркеров были картированы в индивидуальных хромосомах физически (IWGSC 2014), разработаны новые SSR-маркеры хромосомы 3В (Paux et al., 2008). Изучение структуры и распределения микросателлитных повторов в отсекунированных последовательностях ДНК мягкой пшеницы даст возможность выявить закономерности их локализации в разных фракциях геномных последовательностей, установить функциональную роль этих повторов в биологических процессах и послужит для создания новых SSR-маркеров.

Целью настоящей работы являются изучение строения и локализации микросателлитных локусов в богатых генами районах хромосом 2А, 2В и 2D на примере последовательностей ДНК-локусов гомеологичных генов *WFZP-A-B-D* и разработка новых SSR-маркеров, маркирующих данные районы.

Материалы и методы

Объектом исследований в данной работе послужили последовательности ДНК районов хромосом 2AS, 2BS и 2DS, полученные в результате 454Roch- секвенирования ВАС-клонов, содержащих гомеологичные гены *WFZP-A, -B* и *-D* мягкой пшеницы. ВАС-клоны CS248B13, CS184F24 и CS305H5 были отобраны при скрининге геномной ВАС-библиотеки, полученной на основе мягкой пшеницы сорта Чайниз Спринг (<http://cnrgv.toulouse.inra.fr/>). Информация о скрининге, секвенировании и аннотировании последовательностей ДНК данных ВАС-клонов опубликована ранее (Dobrovolskaya et al., 2015). Для идентификации SSR-повторов использовали программу *SSR locator* (Maia et al., 2008) при следующих параметрах поиска: минимум 6 повторов для динуклеотидных микросателлитов, 5 повторов для тринуклеотидных микросателлитов и 4 повтора для тетра-/пента-/гексануклеотидных микросателлитов для совершенных повторов; максимум 3 неповторяющихся основания, разделяющих микросател-

литы, для несовершенных повторов; максимум 100 п. н. между блоками микросателлитов для компаундов. Праймеры к микросателлитным локусам разрабатывали при помощи программы Primer3 (<http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/>). Структура разработанных праймеров приведена в табл. 1. Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили на образцах суммарной ДНК, выделенных ранее из растений линий и сортов мягкой пшеницы, перечисленных в табл. 1, а также из индивидуальных растений картирующей популяции F₂, полученной от скрещивания сортов мягкой пшеницы Чайниз Спринг и Ренан (Dobrovolskaya et al., 2009; 2015) согласно протоколу Nicot с соавт. (Nicot et al., 2004). Разделение фрагментов ПЦР выполняли на автоматическом секвенаторе ABI PRISM 3100 Genetic Analyser (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Размер фрагментов рассчитывали с помощью компьютерной программы ABI GeneScan, version 2.1, разработанной компанией Applied Biosystems. Новые микросателлитные маркеры интегрировали в ранее сконструированные генетические карты хромосом 2А, 2В и 2D мягкой пшеницы (Dobrovolskaya et al., 2015) с помощью компьютерной программы MAPMAKER/EXP ver. 3.0b (Lander et al. 1987), используя картирующую функцию Косамби (Kosambi, 1943) при LOD ≥ 3,00.

Результаты и обсуждение

В ходе выполнения работ по определению первичной структуры генов-гомеологов *WFZP-A-B-D*, регулирующих развитие колоса пшеницы и определяющих судьбу колосковых меристем, было проведено секвенирование трех ВАС-клонов (CS248B13, CS184F24 и CS305H5), несущих целевые гены, и получены данные о структурной организации областей гомеологичных хромосом 2AS, 2BS и 2DS; аннотированы гены и мобильные элементы, входящие в состав данных последовательностей, определен порядок их взаимного расположения (Dobrovolskaya et al., 2015).

Ген *mrs1/WFZP-D* был локализован в богатом генами районе '2S0.8' 2-й гомеологической группы хромосом (Dobrovolskaya et al., 2009). Богатые генами районы хромосом были определены при изучении локализации фрагментов экспрессируемых последовательностей ДНК или EST-последовательностей (EST, expressed sequence tags) в делеционных бинах хромосом мягкой пшеницы (Erayman et al., 2004). Неравномерное распределение генов в хромосомах было подтверждено результатами секвенирования протяженных участков ДНК хромосомы пшеницы 3В, однако четкого разделения на крупные блоки ген-богатых и ген-бедных районов в хромосоме 3В обнаружено не было. Показано, что большая часть генов (75 %) образуют небольшие генные островки, состоящие в среднем из трех генов, разделенные блоками из мобильных элементов, а участки, не содержащие гены, протяженностью более 800 тыс. п.н. встречаются очень редко (Choulet et al., 2010, 2014).

В настоящем исследовании последовательности ВАС-клонов, содержащих гомеологические гены *WFZP*, послужили основой для идентификации и локализации микросателлитных локусов в богатых генами районах хромосом 2AS, 2BS и 2DS. Было обнаружено, что среди динуклеотидных повторов преобладают AG, GA/TC (61,5 %) и TA/AT (27 %) (табл. 2). Ранее было показано, что те же классы динуклеотидных повторов (AG/CT и AT/TA) являются преобладающими динуклеотидными повторами в геноме риса (Grover et al., 2007), геномах девяти видов злаковых, включая виды *Triticum urartu* (донор генома А пшеницы) и *Aegilops tauschii* (донор генома D пшеницы) (Wang et al., 2015), и в целом характерны для геномов растений (Lagercrantz et al., 1993). Идентифицированные нами динуклеотидные микросателлиты локализованы как в генных локусах, так и в локусах мобильных элементов (transposable elements, TE) и неаннотированных последовательностях ДНК. Тринуклеотидные микросателлитные повторы встречались реже, чем динуклеотидные, преобладающие мотив/мотивы обнаружены не были. Большая часть тринуклеотидных микросателлитов была представлена короткими SSR-повторами класса II (≤ 19 п.н.), ассоциированными с TE (табл. 2).

В целом большая часть обнаруженных нами микросателлитных локусов была ассоциирована с TE класса I (ретротранспозоны) и располагалась непосредственно во внутренних областях TE. Нами не было обнаружено ни одной серии гомеологических микросателлитных локусов, ассоциированных с TE (гомеологические микросателлитные локусы – микросателлитные локусы одного типа с гомеологическими фланкирующими последовательностями, локализованные в гомеологических хромосомах разных субгеномов пшеницы). Это связано, по-видимому, с тем, что TE являются быстро эволюционирующей фракцией геномов, которая вносит основной вклад в межвидовую дивергенцию. Высокий процент ассоциированных с ретротранспозонами микросателлитных повторов был обнаружен ранее при получении насыщенной микросателлитными повторами геномной библиотеки ячменя (Ramsay et al., 1999).

Тетра- (три локуса) и пентануклеотидные (один локус) микросателлиты были обнаружены только в неанноти-

рованных последовательностях ДНК (табл. 2). Из девяти микросателлитов, обнаруженных в генных локусах, пять находились в 5'-некодирующих областях генов, два – в кодирующей области и по одному – в 3'-области и интроне, при этом в кодирующей области локализован тринуклеотидный повтор, в остальных – динуклеотидные микросателлиты. Результаты многих исследований свидетельствуют о том, что различные типы микросателлитных локусов распределены в геноме растений неравномерно. Так, было обнаружено, что в кодирующих последовательностях арабидопсиса, риса, кукурузы и пшеницы наиболее часто встречаются три- и гексануклеотидные повторы, в то время как некодирующая фракция содержит остальные типы микросателлитов (Morgante et al., 2002). Высокую плотность микросателлитов в последовательностях, примыкающих к стартовому кодону, включая 5'-UTR (5'-untranslated region, 5'-нетранслируемый район), обнаружили у риса, при этом наиболее представленными оказались динуклеотидные микросателлиты (AG)_n и (CT)_n, в то время как преобладающим динуклеотидом в геноме риса является (AT)_n (Grover et al., 2007). Высокая частота микросателлитов в областях, примыкающих к стартовому кодону, может предполагать их функциональную роль. Микросателлитные маркеры, полученные на основе таких локусов, представляют интерес для разработки функциональных генетических маркеров с целью использования их в фундаментальных исследованиях и селекции.

Отметим, что обнаруженные нами гомеологические микросателлитные локусы располагались либо в генах, включая 5'-районы, примыкающие к стартовому кодону, либо в неаннотированных последовательностях (табл. 2), что отражает консервативность этих областей. Сравнение структуры данных локусов показало, что дивергенция в них связана как с изменением числа повторов, так и с нуклеотидными заменами (рис. 1); наличие инсерционно-делеционного полиморфизма и однонуклеотидных замен в областях, фланкирующих микросателлитные повторы, позволяет разрабатывать локус-специфичные SSR-маркеры (табл. 1, 2).

С. Темных с соавт. (Temnykh et al., 2001) предложили разделить микросателлитные локусы на два класса в зависимости от длины – класс I (≥ 20 п.н.) и класс II (≤ 19 п.н.). Такое разделение на классы отражает потенциал микросателлитов в качестве молекулярных маркеров, так как класс I высокополиморфен, а класс II по частоте мутаций не отличается от уникальных последовательностей ДНК (Temnykh et al., 2001). Среди идентифицированных нами микросателлитов 14 локусов принадлежали к классу I (табл. 2), пять из них были ассоциированы с TE (табл. 2) и непригодны для разработки маркеров, так как неконсервативные фланкирующие последовательности не позволяют разрабатывать локус-специфичные SSR-маркеры. Для нескольких локусов класса I, расположенных на границе контигов, было невозможно разработать один из праймеров (табл. 2). Пары праймеров были разработаны к семи микросателлитным локусам и протестированы на девяти линиях и сортах мягкой пшеницы. Информация о разработанных маркерах представлена в табл. 1.

Полиморфные маркеры были использованы для генотипирования индивидуальных растений популяции F₂,

Таблица 2. Тип и локализация микросателлитных локусов

Мотив	SSR-локус	Локализация	SRR-маркер
2AS (CS248B13)			
AG/GA/CT	(GA)6	na	
	(GA)20^a	G (5'-район)	*
	(GA)4(GA)6 ^b	na	
	(AG)6	TE (I)	
	(AG)16^c	na	CS248B13-1
AT/TA	(CT)6	G (3'-район)	
	(AT)11	na	CS248B13-2
	(AT)7	na	
	(TA)8	TE (II)	
	(TA)19	TE (I)	
TG/GT	(TA)6 ¹	G (интрон)	
	(TG)6	TE (I)	
AGG/GGA	(AGG)6	TE (I)	
	(GGA)5	TE (II)	
TGA	(TGA)7	TE (I)	
	(TGA)2(TGA)4	TE (I)	
CTT	(CTT)5	TE (I)	
ACA	(ACA)5	TE (I)	
GCC, GCG	(GCC)4(GCG)4 ^d	G (CDS)	CS248B13-3
AGCC	(AGCC)4 ¹	na	
AAGAA	(AAGAA)4	na	
2BS (CS184F24)			
AG/GA/TC	(AG)7	na	
	(AG)7	TE (I)	
	(GA)7	TE (I)	
	(GA)10	TE (I)	
	(GA)34	na	*
	(TC)6 ^a	G (5'-район)	*
	(TC)5-CA-(TC)10^b	na	CS184F24-1
GGC/CGG/GCG	(GGC)5	TE (I)	
	(GGC)19 imp	TE (I)	
	(CGG)5	TE (I)	
	(CGG)5(CGG)4	TE (I)	
	(GCG)4(GCG)4	TE (I)	
GTG	(GTG)5	TE (I)	
TTTA	(TTTA)4(TTTA)2		
2DS (CS305H5)			
AG/GA/TC	(GA)9 ^c	na	
	(GA)7(GA)3 ^b	na	
	(AG)8-G-(GA)12	TE (I)	
GC	(GC)6	G (5'-район)	
TCC	(TCC)5	TE (II)	
GAG	(GAG)8	na	CS305H5-2
GCC, GCG	(GCC)5, (GCG)4 ^d	G (CDS)	
TTAT	(TTAT)4	na	
	(TC)12 ^a	G (5'-район)	*
AT/TA	(TA)20	G (5'-район)	CS305H5-1
	(TA)7	TE (II)	

Выделены микросателлитные локусы класса I (длина ≥ 20 п.н.). Буква в верхнем индексе (^{a, b, c} или ^d) обозначает гомеологические микросателлитные локусы. ¹ – для данного локуса идентифицирован гомеологический локус с числом повторов меньшим, чем в заданных критериях поиска; G – ген, TE – мобильный элемент класса I или II, na – неаннотированные последовательности ДНК; 5'- и 3'-районы – некодирующие районы ДНК протяженностью до 1800 п.н. (в данном исследовании), примыкающие к стартовому и терминальному кодам гена, соответственно; CDS – кодирующая область гена; imp – несовершенный повтор; * – локус расположен на границе контига.

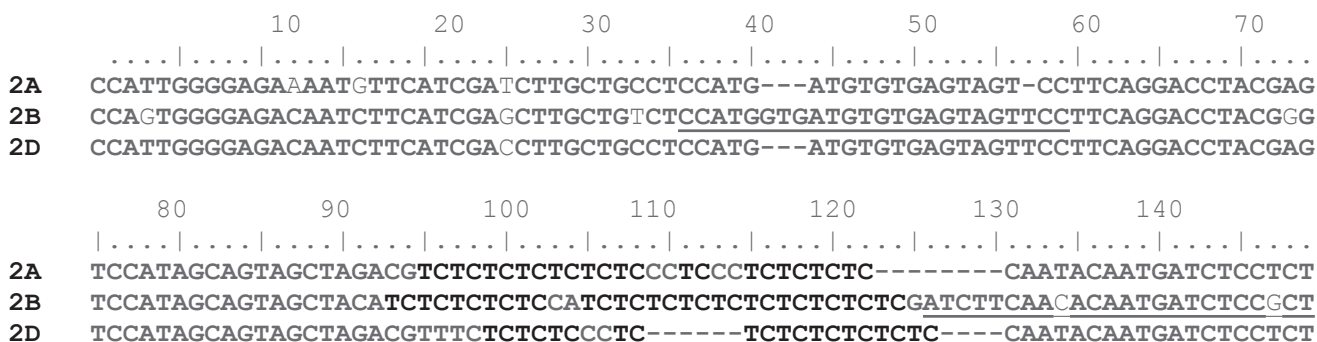


Рис. 1. Структура гомеологичных микросателлитных локусов.

Подчеркнуты области праймеров микросателлитного маркера CS184F24-1. Для выравнивания использованы комплементарные последовательности контигов ВАС-клонов CS248B13 (2A) и CS305H5 (2D), содержащих микросателлитные локусы.

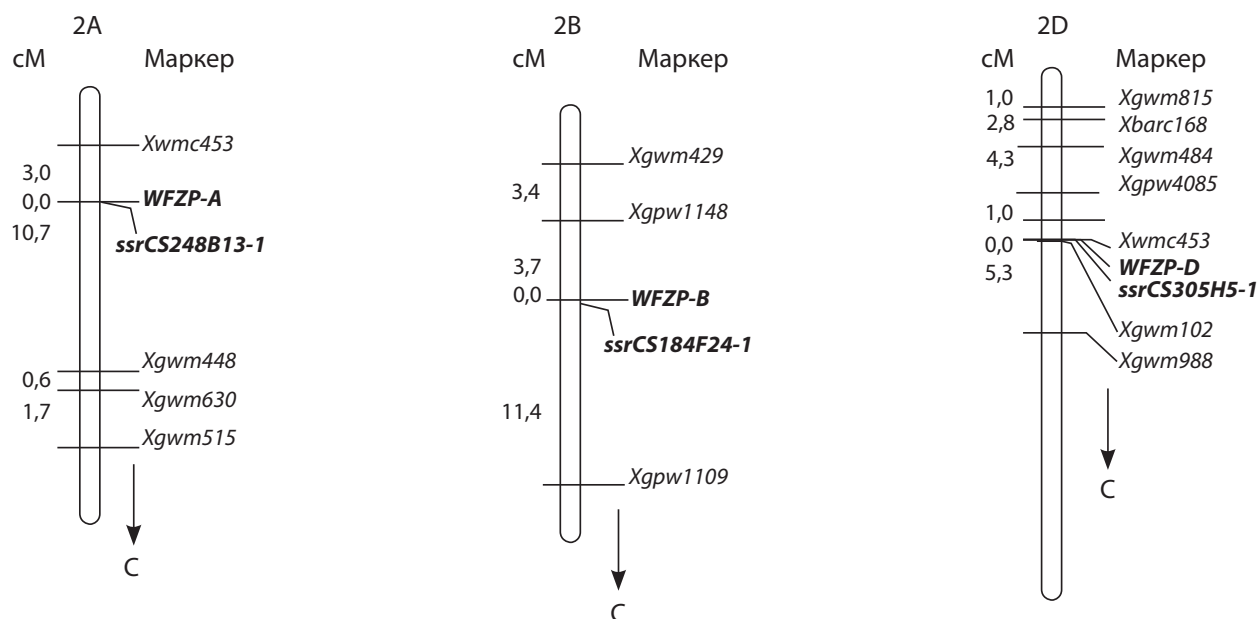


Рис. 2. Микросателлитные карты хромосом 2AS, 2BS и 2DS, включающие гены *WFZP-A-B-D*.

C – центромера, слева от каждой карты – генетические расстояния в cM, справа – названия микросателлитных маркеров и генов.

полученной от скрещивания сортов мягкой пшеницы Чайниз Спринг и Ренан, и интегрированы в построенные ранее генетические карты хромосом 2AS, 2BS и 2DS (Dobrovolskaya et al., 2015). Обнаружено, что они колокализуются с генами *WFZP-A*, *WFZP-B* и *WFZP-D* (рис. 2). Микросателлитные маркеры CS248B13-1 и CS305H5-1 могут быть использованы в дальнейшем для маркирования локусов генов *WFZP-A* и *WFZP-D* в генотипической среде разных сортов пшеницы, в том числе при маркер-контролируемом переносе данных генов наряду с разработанными ранее аллель-специфичными маркерами (Dobrovolskaya et al., 2015). Кроме того, новые микросателлитные маркеры представляют интерес для маркирования ВАС-клонов и генетического картирования генов, локализованных в богатом генами районе ‘2S0.8’ 2-й гомеологической группы хромосом.

Благодарности

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ (соглашение № 14.604.21.0107 от 07.07.2014).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Добровольская О.Б., Сурдий П., Бернард М., Салина Е.А. Синтезия хромосом генома А двух эволюционных линий пшеницы. *Генетика*. 2009;45:1548-1555.
- Леонова И.Н., Родер М.С., Калинина Н.П., Будашкина Е.Б. Генетический анализ и локализация локусов, контролирующих устойчивость интрогрессивных линий *Triticum aestivum* × *Triticum timopheevii* к листовой ржавчине. *Генетика*. 2008;44:1652-1659.

- Choulet F., Alberti A., Theil S., Glover N., Barbe V., Daron J., Pingault L., Sourdille P., Couloux A., Paux E., Leroy P., Mangenot S., Guilhot N., Le Gouis J., Balfourier F., Alaux M., Jamilloux V., Poulain J., Durand C., Bellec A., Gaspin C., Safar J., Dolezel J., Rogers J., Vandepoele K., Aury J.M., Mayer K., Berges H., Quesneville H., Wincker P., Feuillet C. Structural and functional partitioning of bread wheat chromosome 3B. *Science*. 2014;345:1249721–1–7. DOI: 10.1126/science.1249721
- Choulet F., Wicker T., Rustenholz C., Paux E., Salse J., Leroy P., Pingault L., Sourdille P., Couloux A., Paux E., Leroy P., Mangenot S., Guilhot N., Le Gouis J., Balfourier F., Alaux M., Jamilloux V., Poulain J., Durand C., Bellec A., Gaspin C., Safar J., Dolezel J., Rogers J., Vandepoele K., Aury J.M., Mayer K., Berges H., Quesneville H., Wincker P., Feuillet C. Megabase level sequencing reveals contrasted organization and evolution patterns of the wheat gene and transposable element spaces. *Plant Cell*. 2010;22:1686–701. DOI: 10.1105/tpc.110.074187
- Dobrovolskaya O., Boeuf C., Salse J., Pont C., Sourdille P., Bernard M., Salina E. Microsatellite mapping of *Ae. speltoides* and map-based comparative analysis of the S, G, and B genomes of Triticeae species. *Theor. Appl. Genet.* 2011;123:1145–1157. DOI: 10.1007/s00122-011-1655-z
- Dobrovolskaya O., Martinek P., Voylovkov A.V., Korzun V., Röder M.S., Börner A. Microsatellite mapping of genes that determine supernumerary spikelets in wheat (*T. aestivum*) and rye (*S. cereale*). *Theor. Appl. Genet.* 2009;119:867–874. DOI: 10.1007/s00122-009-1095-1
- Dobrovolskaya O., Pont C., Sibout R., Martinek P., Badaeva E., Chosson A., Watanabe N., Prat E., Gautier N., Gautier V., Poncet C., Orlov Y.L., Krasnikov A.A., Bergès H., Salina E., Laikova L., Salse J. *FRIZZY PANICLE* drives supernumerary spikelets in bread wheat (*T. aestivum* L.). *Plant Physiol.* 2015;167:189–199. DOI: 10.1104/pp.114.250043
- Erayman M., Sandhu D., Sidhu D., Dilbirligi M., Baenziger P.S., Gill K.S. Demarcating gene-rich regions of the wheat genome. *Nucl. Acids Res.* 2004;32:3546–3565. DOI: 10.1093/nar/gkh639
- Ganal M.W., Röder M.S. Microsatellite and SNP markers in wheat breeding. Eds R.K. Varshney, R. Tuberosa. *Genomics Assisted Crop Improvement*, V. 2. *Genomics Applications in Crops*. Springer, Dordrecht, the Netherlands. 2007.
- Grover A., Aishwarya V., Sharma P.C. Biased distribution of microsatellite motifs in the rice genome. *Mol. Gen. Genom.* 2007;277:469–480. DOI 10.1007/s00438-006-0204-y
- IWGSC (International Wheat Genome Sequencing Consortium). A chromosome-based draft sequence of the hexaploid bread wheat (*Triticum aestivum*) genome. *Science*. 2014;345:1251788–1–11. DOI: 10.1126/science.1251788
- Kosambi D.D. The estimation of map distances from recombination values. *Ann. Eugen.* 1943;12:172–175.
- Lagercrantz U., Ellegren H., Andersson L. The abundance of various polymorphic microsatellite motifs differs between plants and vertebrates. *Nucl. Acids Res.* 1993;21:1111–1115.
- Lander E.S., Green P., Abrahamson J., Barlow A., Daly M.J., Lincoln S.E., Newburg L. MAPMAKER: an interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations. *Genomics*. 1987;1:174–181.
- Leonova I.N., Kalinina N.P., Budashkina E.B., Röder M.S. Genetic analysis and localization of loci controlling leaf rust resistance of *Triticum aestivum* × *Triticum timopheevii* introgression lines. *Genetika (Moscow)*. 2008;44:1431–1437.
- Li Y.-C., Korol A.B., Beiles A., Nevo E. Microsatellites: genomic distribution, putative functions and mutational mechanisms: a review. *Mol. Ecol.* 2002;11:2453–2465. DOI: 10.1046/j.1365-294X.2002.01643.x
- Maia L.C.D., Palmieri D.A., Souza V.Q.D., Kopp M.M., Carvalho F.I.F.D., Costa de Oliveira A. *SSR Locator: tool for simple sequence repeat discovery integrated with primer design and PCR simulation*. *Int. J. Plant Genomics*. 2008;412696. DOI: 10.1155/2008/412696
- Morgante M., Hanafey M., Powell W. Microsatellites are preferentially associated with nonrepetitive DNA in plant genomes. *Nat. Genet.* 2002;30:194–200. DOI: 10.1038/ng822
- Nicot N., Chiquet V., Gandon B., Amilhat L., Legeai F., Leroy F., Bernard M., Sourdille P. Study of simple sequence repeat (SSR) markers from wheat expressed sequence tags (ESTs). *Theor. Appl. Genet.* 2004;109:800–805. DOI 10.1007/s00122-004-1685-x
- Paux E., Sourdille P., Salse J., Sainetac C., Choulet F., Leroy P., Korol A., Michalak M., Kianian S., Spielmeier W., Lagudah E., Somers D., Kilian A., Alaux M., Vautrin S., Bergis H., Eversole K., Appels R., Safar J., Simkova H., Dolezel J., Bernard M., Feuillet C. A physical map of the 1-gigabase bread wheat chromosome 3B. *Science*. 2008;322:101–104. DOI: 10.1126/science.1161847
- Ramsay L., Macaulay M., Cradle L., Morgante M., Ivanishevich S.D., Maestri E., Powell W., Waugh R. Intimate association of microsatellite repeats with retrotransposons and other dispersed repetitive elements in barley. *Plant J.* 1999;17:415–425. DOI: 10.1046/j.1365-313X.1999.00392.x
- Röder M.S., Korzun V., Wendehake K., Plaschke J., Tixier M.H., Leroy P., Ganal M.W. A microsatellite map of wheat. *Genetics*. 1998;149:2007–2023.
- Salina E.A., Leonova I.N., Efremova T.T., Röder M.S. Wheat genome structure: translocations during the course of polyploidization. *Funct. Integr. Genomics*. 2006;6:71–80. DOI 10.1007/s10142-005-0001-4
- Sia E.A., Jinks-Robertson S., Petes T. Genetic control of microsatellite stability. *Mutat. Res.* 1997;383:61–70.
- Tautz D., Renz M. Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eukaryotic genomes. *Nucl. Acids Res.* 1984;12:4127–4138.
- Temnykh S., DeClerck G., Lukashova A., Lipovich L., Cartinhour S., McCouch S. Computational and experimental analysis of microsatellites in rice (*Oryza sativa* L.): frequency, length variation, transposon association, and genetic marker potential. *Genome Res.* 2001;11:1441–1452. DOI: 10.1101/gr.184001
- Thuillet A.C., Bru D., David J., Roumet P., Santoni S., Sourdille P., Bataillon T. Direct estimation of mutation rate for 10 microsatellite loci in durum wheat, *Triticum turgidum* (L.) Thell. ssp durum Desf. *Mol. Biol. Evol.* 2002;19:122–125.
- Wang Y., Yang C., Jin Q., Zhou D., Wang S., Yu Y., Yang L. Genome-wide distribution comparative and composition analysis of the SSRs in Poaceae. *BMC Genet.* 2015. DOI: 10.1186/s12863-015-0178-z
- Webster M.T., Smith N.G.C., Ellegren H. Microsatellite evolution inferred from human-chimpanzee genomic sequence alignments. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2002;99:8748–8753. DOI: 10.1073/pnas.122067599
- Wierdl M., Dominska M., Petes T.D. Microsatellite instability in yeast: dependence on the length of the microsatellite. *Genetics*. 1997;140:769–779.