

СОХРАНЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ АНЕУПЛОИДНЫХ И ЗАМЕЩЕННЫХ ЛИНИЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ

Т.Т. Ефремова, Л.И. Лайкова, В.С. Арбузова, О.М. Попова

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия, e-mail: efremova@bionet.nsc.ru

Представлены данные о генетической коллекции моносомных и дителосомных линий мягкой пшеницы по двум сортам Саратовская 29 и Диамант 2, полученных в ИЦиГ СО РАН. На основе моносомных линий созданы наборы с межсортовым и чужеродным замещением отдельных хромосом или их фрагментов, с привлечением в качестве доноров различных сортов мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. и представителей других таксономических групп (*Secale cereale* L., *Aegilops tauschii* Coss., *Triticum timopheevii* Zhuk.). Наборы анеуплоидных и замещенных линий, а также серии анеуплоидных линий сорта Chinese Spring, полученных Э. Сирсом, используются для изучения генетических эффектов отдельных хромосом на проявление хозяйственно важных признаков, локализации и картирования генов. Особое внимание уделено разработке и оценке эффективности использования методов целенаправленного и ускоренного переноса отдельных хромосом или их участков, несущих желаемые гены от родственных видов и сортов в геном мягкой пшеницы.

Ключевые слова: мягкая пшеница, анеуплоиды, коллекция, локализация генов.

В Институте цитологии и генетики СО РАН создана и поддерживается в живом состоянии коллекция анеуплоидных и замещенных линий мягкой пшеницы, которая с успехом используется для локализации генов, определяющих адаптивные и хозяйственно ценные признаки. Начало этим исследованиям положили пионерские работы проф. Э. Сирса, который получил различные по числу хромосом анеуплоидные линии: полные наборы моносомных, дителосомных, нулли-тетрасомных, тетрасомных, трисомных линий по сорту Chinese Spring (CS) (Sears, 1954). Им были разработаны новые цитогенетические методы анализа генома мягкой пшеницы с использованием различных типов анеуплоидов. Для хромосомной локализации генов наиболее широко применялся моносомный анализ. С использованием ди- и монотелосомных линий проводят локализацию с точностью до плеча хромосомы. Наиболее значительные успехи в локализации генов мягкой пшеницы и других представителей трибы Triticinae были достигнуты с помощью нулли-тетрасомного анализа. Современные молекулярно-генети-

ческие карты пшеницы были составлены с участием нулли-тетрасомных и дителосомных линий сорта CS, которые являются удобным инструментом для локализации молекулярных маркеров на хромосомах. После получения первых анеуплоидных линий были начаты работы по созданию межсортовых и чужеродных замещенных и дополненных линий от желательных доноров. В мире известны полные серии моносомных линий, созданные на других сортах, в том числе на 14 сортах в России и странах СНГ (Worland, 1988), большое число линий с замещением и добавлением целых хромосом или их фрагментов, линий с транслокациями (Shchapova, Kravtsova, 1982; Rabinovich, 1998; Friebe *et al.*, 2001).

В нашей стране это цитогенетическое направление начиная с 1966 г. развивала О.И. Майстренко. Основным научным вкладом проводимых ею исследований является практическая реализация возможностей моно- и дителосомного анализа для локализации новых генов с их последующим картированием с помощью молекулярных маркеров, что является основой

для построения насыщенных генетических и физических карт хромосом. А также использование разнообразия анеуплоидных и замещенных линий для установления генетической связи отдельных хромосом с ценными признаками.

В статье представлены данные о генетической коллекции анеуплоидных, замещенных, интрогрессивных и изогенных линий мягкой пшеницы и результаты, полученные с их использованием, позволившие установить влияние отдельных хромосом на проявление ряда хозяйственно важных признаков, а также локализовать и картировать отдельные гены.

Коллекция моносомных и дителосомных линий по сортам Саратовская 29 и Диамант. С использованием анеуплоидных линий сорта CS, полученных Э. Сирсом, были созданы полные серии моносомных ($2n = 41$) и дителосомных ($2n = 40 + 2t$) линий по двум сортам мягкой пшеницы – Саратовская 29 (С29) и Диамант 2 (Дм2) (Майстренко, 1973а; Лайкова и др., 1988), всего более 200 линий. Поддержание и использование анеуплоидных линий в генетическом анализе связано с выполнением трудоемких цитологических методов, требующих длительных усилий со стороны исследователей. Необходимы постоянный и тщательный цитологический анализ каждого растения с подсчетом числа хромосом при пересеве линий, изоляция отдельных колосьев с целью предотвращения переопыления. Кроме того, необходима периодическая проверка смены унивалента и телоцентрической хромосомы во избежание ошибок в определении нумерации хромосом. В настоящее время разработаны современные молекулярно-генетические методы анализа, открывающие новые возможности для точной и быстрой идентификации отдельных хромосом или любого плеча мягкой пшеницы и гомеологичных чужеродных хромосом. Так, с помощью молекулярных маркеров проведена проверка нулли-тетрасомных и дителосомных линий сорта CS и установлено наличие хромосомных aberrаций для некоторых линий (Devos *et al.*, 1999).

В настоящее время моносомные линии стали реже использоваться в генетическом анализе. Поэтому остро стоит вопрос об их сохранении. К несомненным достижениям этого цитогенетического направления можно отнести хромосомную локализацию генов на основе моносомного

анализа и картирование генов относительно центромеры с использованием дителосомных линий. В результате более 300 генов мягкой пшеницы локализованы в определенных хромосомах, а примерно для одной трети из них установлено местоположение по отношению к центромере (McIntoch *et al.*, 2006). В ИЦиГ СО РАН проведена хромосомная локализация около 20 генов, отвечающих за морфологические признаки и адаптацию пшеницы (табл. 1), сведения о некоторых внесены в «Каталог генных символов пшеницы».

Исследование ряда ценных генов-маркеров определенных хромосом проводится с участием почти изогенных линий сорта мягкой пшеницы С29. Генетическая коллекция представлена 16 изогенными линиями по морфологическим признакам с известной хромосомной локализацией (Arbuzova *et al.*, 1998). Изогенные линии являются удобной моделью для изучения влияния генов на агрономические признаки, анализа взаимодействия генов на общем генетическом фоне. Кроме того, они являются наиболее подходящей моделью для молекулярного картирования генов. Так, микросателлитные маркеры были использованы для картирования ранее локализованной на хромосомах 3 гомеологической группы генов *S1*, *S2* и *S3*, контролирующей округлую форму зерновок у индуцированных мутантов (Maystrenko *et al.*, 1998). Эти гены были локализованы в прицентромерных областях хромосом 3A, 3B и 3D (Salina *et al.*, 2000). Для генов пурпурной окраски спелого зерна *Pp1* и *Pp2* была уточнена локализация на хромосомах 7BL и 2AL соответственно (Dobrovolskaya *et al.*, 2006).

Коллекция замещенных и интрогрессивных линий мягкой пшеницы. Ценным результатом исследований, выполненных с помощью анеуплоидов, оказалась разработка методов замещения и добавления определенных хромосом желательных донорских сортов мягкой пшеницы и ее сородичей (Unrau *et al.*, 1956; Law, Worland, 1973). Нами разрабатываются новые подходы, направленные на ускоренное создание внутривидовых и чужеродных замещенных линий по определенным хромосомам от сортов и видов-доноров. Для этого на основе почти изогенных линий С29 получены моносомные линии этого сорта с введенными маркерными

Таблица 1

Хромосомная локализация генов, проведенная с использованием моносомных, дителосомных и почти изогенных линий сортов Саратовская 29 и Chinese Spring

Ген	Хромосома	Признак	Автор
<i>Vrn-A1</i>	5A	Отзывчивость на яровизацию	Майстренко, 1973б
<i>Vrn-B1a</i>	5B	Отзывчивость на яровизацию	Майстренко, 1992
<i>Vrn-B1b</i>	5B		
<i>Vrn-D1</i>	5D	Отзывчивость на яровизацию	Майстренко, 1973б
<i>Pc2</i>	7DS	Антоциановая окраска стебля	Maystrenko, Laikova, 1995
<i>Egl(P)</i>	7A	Удлиненные чешуи колоса	Майстренко, неопуб. данные
<i>S1, S2, S3</i>	3D, 3B, 3D	Округлая форма зерновки	Maystrenko <i>et al.</i> , 1998
<i>Pp1</i> и <i>Pp2</i>	7BL и 2AL	Пурпурная окраска перикарпа зерновки	Dobrovolskaya <i>et al.</i> , 2006
<i>Pa</i>	4BL*	Наличие ресничек на ушках листового влагалища	Майстренко, 1992
<i>Hl</i>	4BL*	Опушение листовой пластинки	Майстренко, 1976
<i>Pan1</i>	7DS	Фиолетовая окраска пыльников	Maystrenko, Laikova, 1995
<i>Rg3</i>	1AS	Красная окраска колоса	Efremova <i>et al.</i> , 1998
<i>Fr1</i> и <i>Fr2</i>	7DL и 7BS	Реакция растений на дефицит железа	Майстренко, 1992

* После 7-го Международного генетического симпозиума по пшенице (Кембридж, 1988) хромосома 4A была переобозначена как 4B.

генами от различных сортов пшеницы, а также от *Secale cereale* L., *Triticum polonicum* L., *T. petropavlovskyi* Udach. et Migusch. Использование генов, контролирующих морфологические признаки растения и обладающих дозовым эффектом, позволяет выделить по фенотипу моносомные растения без проведения постоянного цитологического анализа. Так, получены моносомные чужеродные линии пшеницы сорта С29 с хромосомой 5R ржи, в которой локализован ген *Hr* (опушенная колосоножка), тем самым стало возможным контролировать замещение по хромосомам 5 гомеологической группы. Моносомники сорта С29, маркированные мутантными генами *S1*, *S2* и *S3*, контролирующими комплекс признаков сферококкоидности, позволяют проводить замещение и по хромосомам 3-й гомеологической группы. Хромосома 7A моносомной линии сорта С29 маркирована геном *P(Egl)*, который детерминирует наличие удлиненных чешуй колоса у видов *T. polonicum* и *T. petropavlovskyi*. Наличие полных серий моносомных линий, а также моносомников, маркированных морфологическими признаками, позволило авторам создать 130 линий с межсортовым и чужеродным замещением

отдельных хромосом или их плеч по двум сортам-реципиентам С29 и Дм2, в том числе полную серию замещенных линий С29/Янетцкис Пробат и большой набор замещенных линий по хромосомам 5-й гомеологической группы. Кроме того, получены 6 замещенных линий Дм2/Новосибирская 67 по хромосомам 1-й и 6-й групп на их основе – линия с одновременным замещением двух хромосом 1A и 6D.

При создании замещенных линий возможны ошибки, связанные со сменой и переключением унивалента. Поэтому в отсутствие надежных генетических маркеров необходима проверка корректности замещения хромосом сорта-реципиента на хромосому сорта-донора. Для этих целей использовали микросателлитный (SSR) анализ, на основе которого провели проверку полной серии замещенных линий С29/Янетцкис Пробат и было показано ошибочное замещение для трех линий (Pestsova *et al.*, 2000). Также проверены 20 линий по сорту С29 с межсортовым замещением хромосом 5A и 5D, для которых установлена точность замещения хромосом сорта-реципиента на хромосому сорта-донора (Efremova *et al.*, 2006a). Таким образом, с помощью SSR-анализа удалось идентифицировать

набор замещенных линий пшеницы С29, что позволило в дальнейшем использовать их для установления эффектов отдельных хромосом на выраженность изучаемых признаков.

Кроме того, в коллекцию входят 12 пшенично-ржаных замещенных линий с участием хромосомы 5R яровой ржи сорта Онохойская. В каждой линии хромосома 5A сортов-реципиентов замещена гомеологичной хромосомой 5R ржи (Efremova *et al.*, 2006b).

Получены интрогрессивные линии пшеницы сорта С29 с комплексной устойчивостью к бурой, стеблевой ржавчинам и мучнистой росе (рис. 1). В качестве донора иммунитета использовали амфидиплоид *Triticum timopheevii* Zhuk. × *Aegilops tauschii* Coss. (syn. *Ae. squarrosa* L.) (GGAADD). Эта синтетическая пшеница сочетает все ценные признаки диких видов и имеет одинаковый с мягкой пшеницей уровень плоидности ($2n = 42$), что облегчает передачу чужеродного материала при скрещивании. Отбор иммунных линий сорта С29 проводили в естественных условиях и инфекционном фоне в разных экологических зонах – Казахстане, Новосибирской и Омской областях (Лайкова и др., 2004а). Для уточнения локализации и размера фрагментов генома *T. timopheevii* и/или *Ae. tauschii* у иммунных линий пшеницы С29 использовали микросателлитные маркеры. Проанализировано 9 интрогрессивных линий

BC5–9, обладающих устойчивостью к бурой ржавчине и мучнистой росе, и выявлены участки интрогрессии генома синтетической пшеницы в прицентромерной зоне хромосом 2-й гомеологической группы, особенно хромосом 2D и 2В. У ряда линий показано наличие транслоцированных фрагментов в хромосомы 1D, 5B, 5D, 6B и 7D (Leonova *et al.*, 2007).

Изучение влияния отдельных хромосом злаков на комплекс хозяйственно ценных признаков

Влияние разных аллелей гена *Vrn-B1* на время колошения. В хромосомах 5A, 5B и 5D мягкой пшеницы локализованы доминантные гены *Vrn-A1*, *Vrn-B1* и *Vrn-D1*, влияющие на тип развития (яровость–озимость) и время колошения. На основе изучения замещенных линий по хромосоме 5A сортов-реципиентов С29 и Дм2 на таковые озимых сортов-доноров Миrowsкая 808, Скороспелка 35, Ульяновка установлено наличие двух аллелей: *Vrn-B1a* (сорт С29) и *Vrn-B1b* (сорт Дм2) в локусе *VRN-B1* (Майстренко, 1992). Показано, что колошение у линий, несущих наиболее сильный аллель *Vrn-B1a*, наступает на 10–14 дней раньше, чем у носителей слабого аллеля *Vrn-B1b*. Необходимо отметить, что исследование множественного аллелизма гена *Vrn-B1* было про-

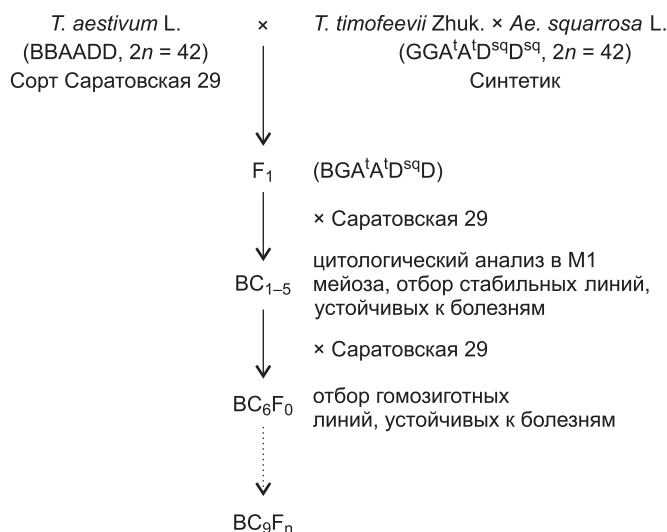


Рис. 1. Создание иммунных линий мягкой пшеницы сорта Саратовская 29 с комплексной устойчивостью к мучнистой росе и бурой и стеблевой ржавчинам (Лайкова и др., 2004а).

ведено на генетическом фоне двух сортов-реципиентов С29 и Дм2 в отсутствие доминантного гена *Vrn-A1*. Для экспериментальной проверки полученных результатов созданы 2 замещенные линии пшеницы озимого сорта Sava по хромосоме 5B и 2 почти изогенные линии озимого сорта Безостая 1 с доминантным геном *Vrn-B1* (Efremova *et al.*, 2008). Яровой тип развития полученных замещенных и изогенных линий определяется моногенно разными аллелями доминантного гена *Vrn-B1*. Результаты изучения растений BC₅₋₇ F₂ показали, что замещенные линии Sava/C29 5B и Sava/Диамант 5B различаются по времени колошения на 7–12 дней. При этом более скороспелой является линия с донорской хромосомой 5B от сорта С29. Изучение времени колошения изогенных линий Безостая 1 i: *Vrn-B1a* (56 дней) и Безостая 1 i: *Vrn-B1b* (75 дней) выявило достоверное различие между линиями в сроках колошения. Очевидно, что использование разных аллелей доминантных генов *Vrn* увеличивает возможность регулирования времени колошения, что весьма важно как для селекции новых форм, так и для понимания механизмов, обеспечивающих широкую адаптацию пшеницы.

Влияние хромосомы 5R ржи на тип развития, время колошения и продуктивность пшеницы. В линиях с чужеродным 5R(5A) замещением хромосом изучено влияние хромосомы 5R на тип развития и время колошения растений. Донором хромосомы 5R послужила яровая рожь сорта Онохойская, которая является скороспелой и в условиях г. Новосибирска выколашивается за 36 дней. С помощью RFLP-маркеров в хромосоме 5R ржи Онохойская был картирован ген *Vrn-R1* (Malyshev *et al.*, 2001). При переносе хромосомы 5R ржи Онохойская в яровые сорта мягкой пшеницы, различающиеся по скороспелости, предполагалось получить более скороспелые формы. Однако, как оказалось, замещение хромосомы 5A пшеницы с доминантным геном *Vrn-A1* на хромосому 5R ржи Онохойская с доминантным геном *Vrn-R1* вызвало значительное отставание по времени колошения у 10 пшенично-ржаных замещенных линий. Кроме того, две чужеродные линии 5R(5A) по сортам Rang и Мироновская крупнозерная проявили себя как озимые формы. Следовательно, в замещенных линиях

не наблюдалось экспрессии гена *Vrn-R1* ярового развития ржи в присутствии хромосомы 5R (Efremova *et al.*, 2006b). Можно предположить, что в популяции ржи, используемой в качестве донорской, этот ген находился в гетерозиготе (*Vrn-R1/vrn-R1*), и в скрещивание с пшеницей было взято растение, у которого хромосома 5R имела рецессивный аллель этого гена. Таким образом, произошло замещение доминантного гена *Vrn-A1* пшеницы на рецессивный аллель *vrn-R1* яровой ржи. Это вызвало переход на озимый тип развития пшенично-ржаных замещенных линий по сортам Rang и Мироновская крупнозерная. Установлено, что пшенично-ржаные 5R(5A) замещенные линии по сортам Rang и Мироновская крупнозерная в условиях г. Новосибирска успешно перезимовывают, но в меньшей степени, чем известные озимые сорта Ульяновка и Мироновская 808.

Изучено влияние хромосомы 5R ржи, находящейся в геноме мягкой пшеницы, на зерновую продуктивность главного колоса (длина колоса, число зерен и масса зерна с колоса) в полевых опытах 2005 и 2006 гг. Для структурного анализа брали по 25 колосьев замещенных линий и сортов-реципиентов. Полученные результаты показали, что на выраженность изученных признаков оказывают влияние генотип сорта-реципиента и условия вегетации. Наиболее благоприятным для роста и развития растений был 2005 г. У всех изученных замещенных линий колос был достоверно длиннее, чем у сортов-реципиентов (на 11–43 мм в 2006 г. и на 7–35 мм в 2005 г.) (рис. 2). Вероятно, это связано с отсутствием хромосомы 5A пшеницы, в которой локализован ген *Q*, ингибитор спельтоидности, который оказывает плейотропный эффект на ломкость колоса и на удлинение колосового стержня. В результате растения пшенично-ржаных замещенных линий имеют более длинный колос спельтоидной формы, что указывает на отсутствие гена *Q* у ржи.

В табл. 2 представлены результаты изучения продуктивности колоса, которые показали, что озимые пшенично-ржаные замещенные линии по сортам Rang и Мироновская крупнозерная достоверно превышали показатели сортов-реципиентов по числу зерен и массе зерна колоса. В благоприятных условиях 2005 г. у 5 пшенично-ржаных 5R(5A) линий по сортам Диамант,

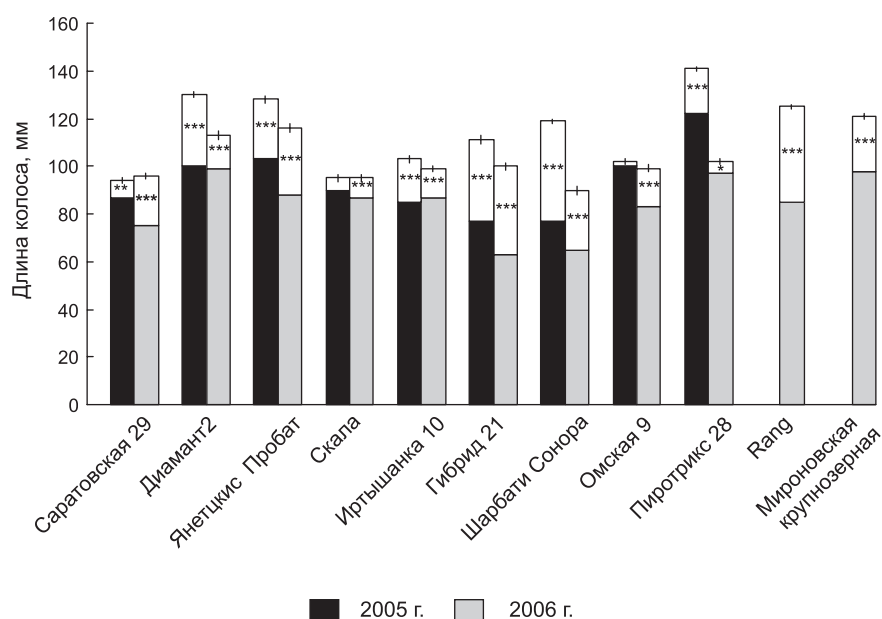


Рис. 2. Сравнение пшенично-ржаных 5R(5A) замещенных линий и сортов-реципиентов по длине колоса (г. Новосибирск, поле, 2005 и 2006 гг.).

Белый цвет – пшенично-ржаные замещенные линии 5R(5A), черный и серый цвета – сорта-реципиенты.

* $p \geq 0,05$; ** $p \geq 0,01$; *** $p \geq 0,001$.

Янетцкис Пробат, Шарбати Сонора и Гибрид 21 по числу зерен наблюдали достоверное увеличение в сравнении с сортом-реципиентом, а достоверное уменьшение значений по признаку «число зерен» происходило у линии C29 5R(5A). У остальных линий различия с реципиентом не отмечены. Из-за неблагоприятных условий 2006 г. наблюдалось уменьшение числа зерен у большинства линий, поскольку верхняя часть колоса оказалась недоразвитой. Особенно это коснулось линий Скала 5R(5A) и Иртышанка 10 5R(5A), у которых установлено достоверное уменьшение числа зерен по сравнению с сортами-реципиентами.

Масса зерна главного колоса в менее благоприятных условиях 2006 г. по всем сортам и линиям была меньше, чем в 2005 г. По изученному признаку в 2005 г. произошло достоверное увеличение средних значений у линий Янетцкис Пробат 5R(5A) и Гибрид 21 5R(5A) (табл. 2). В то же время замещение хромосом 5R(5A) отрицательно повлияло на проявление этого признака у линий по сортам C29, Дм2, Скала, Иртышанка 10, Пиротрикс 28. В 2006 г. достоверное снижение массы зерна наблюдалось у трех линий по сортам Скала, Иртышанка 10, Омская 9.

Таким образом, из всех изученных пшенично-ржаных замещенных линий наиболее продуктивными по числу и массе зерна колоса оказались линии Янетцкис Пробат 5R(5A) и Гибрид 21 5R(5A), а также озимые линии Rang 5R(5A) и Мироновская крупнозерная 5R(5A). Стабильные позиции относительно реципиентов по числу зерен в колосе показали линии по сортам Омская 9 и Пиротрикс 28.

Влияние межсортового замещения хромосом 5A и 5D на качество зерна. Исследовали генетический контроль содержания белка в зерне и твердозерность в линиях с межсортовым замещением хромосом 5A и 5D. В качестве реципиента использовали сорт твердозерной пшеницы C29 с высокими показателями хлебопекарного качества, но относительно низким содержанием белка в зерне. Донорами послужили 10 сортов, в том числе мягкозерные (Ульяновка (Ул) и CS) и высокобелковые сорта (Атлас 66 и Дм2). Анализ замещенных линий указывает на значительное влияние хромосом 5-й гомеологической группы в контроле обоих признаков. В результате замещения хромосомы 5D сорта C29 на гомологичные хромосомы 10 доноров обнаружено достоверное увеличение содержания белка в зерне на 1,5 %

Таблица 2

Характеристика пшенично-ржаных 5R(5A) замещенных линий по показателям продуктивности главного колоса (г. Новосибирск, 2005, 2006 гг.).

Линия/ сорт	Показатели продуктивности			
	Число зерен с колоса, шт.		Масса зерна с колоса, г.	
	2005 г.	2006 г.	2005 г.	2006 г.
Саратовская 29	40,95	34,62	1,33	0,88
Саратовская 29 5R(5A)	34,83**	30,06*	1,01***	0,90
Диамант 2	35,40	22,52	1,12	0,77
Диамант 2 5R(5A)	40,56*	30,50***	0,73**	0,79
Янетцкис Пробат	39,31	31,69	1,09	0,70
Янетцкис Пробат 5R(5A)	55,42***	26,47	1,56**	0,66
Скала	36,85	37,65	1,28	0,97
Скала 5R(5A)	29,63	24,44***	0,68**	0,79**
Иртышанка 10	34,40	40,02	1,19	1,10
Иртышанка 10 5R(5A)	37,95	33,14***	0,92***	0,72**
Гибрид 21	32,75	22,60	0,98	0,49
Гибрид 21 5R(5A)	40,56**	16,38	1,11***	0,36
Шарбати Сонора	34,00	23,31	0,95	0,58
Шарбати Сонора 5R(5A)	40,07*	26,43	1,09	0,60
Омская 9	40,44	30,26	1,35	1,14
Омская 9 5R(5A)	41,40	31,26	1,19	0,85***
Пиротрикс 28	58,35	31,13	1,72	0,70
Пиротрикс 28 5R(5A)	60,25	32,84	1,18*	0,46
Rang	–	31,31	–	0,76
Rang 5R(5A)	–	40,70***	–	1,37***
Мироновская крупнозерная	–	24,12	–	1,0
Мироновская крупнозерная 5R(5A)	–	36,51***	–	1,65**

* $p \geq 0,05$; ** $p \geq 0,01$; *** $p \geq 0,001$.

в среднем у 6 линий по сортам Дм2, Мироновская 808 (М808), Атлас 66 (А66), Янетцкис Пробат (ЯП), Скороспелка 35 (Ск35) и СС в сравнении с реципиентом (рис. 3). Необходимо отметить, что изученные замещенные линии не достигли уровня высокобелковых яровых сортов-доноров (рис. 3). Относительно реципиента С29 и доноров содержание белка в зерне в двух замещенных линиях по сортам Новосибирская 67 (Н67) и Грекум 114 (Гр114) было достоверно ниже в среднем на 1, 6 % (рис. 3). Межсортовое замещение хромосомы 5A от этих же доноров не выявило различий с реципиентом С29.

Также в 10 замещенных линиях по хромосоме 5D и трех линиях по хромосоме 5A провели

оценку твердозерности по диаметру частиц муки (в микронах). Чем выше этот показатель, тем выше качество муки. По структуре эндосперма зерно пшеницы классифицируется на твердозерные и мягкозерные. Мягкозерность является доминантным признаком. Известно, что ген, определяющий твердость *ha* (hard), локализован в коротком плече хромосомы 5D (Law *et al.*, 1978). Результаты исследования показали, что в условиях гидропонной теплицы средний диаметр частиц муки сорта-реципиента С29 составил 22,5 мк. Из 10 изученных замещенных линий по хромосоме 5D у 4 (по сортам Н67, А66, Гр114, Дм2) отмечено достоверное превышение диаметра частиц муки по

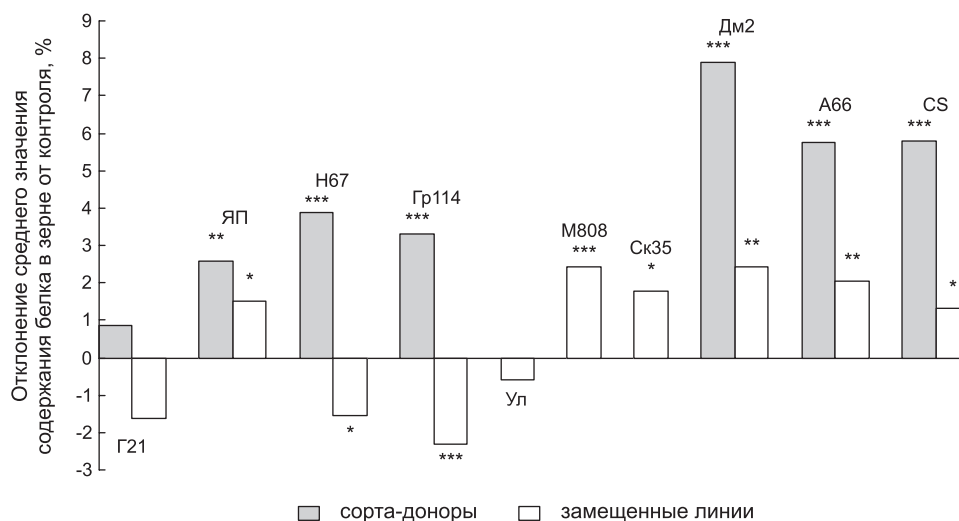


Рис. 3. Отклонения по содержанию белка в зерне линий с межсортовым замещением хромосомы 5D и сортов-доноров от сорта Саратовская 29 (гидропонная теплица).

* $p \geq 0,05$; ** $p \geq 0,01$; *** $p \geq 0,001$.

сравнению с реципиентом в среднем на 2–6 мк. Две замещенные линии по сортам Г21 и ЯП оказались на уровне реципиента С29 (23 мк). При этом только две замещенные линии С29/ Н67 5D и С29/ А66 5D достигли уровня сортов-доноров (26мк). Мука с самым мелким диаметром частиц была у замещенных линий С29/Ул 5D и С29/СС 5D (соответственно 10,93 и 11,13 мк) и их сортов-доноров (10 и 12 мк). В то же время у линии С29 с межсортовым замещением хромосомы 5A от сорта Ул диаметр частиц муки составил 23,8 мк, что превышает показатели донора на 11,7 мк и приближается к значению реципиента С29. Также на уровне реципиента оказались еще две замещенные линии пшеницы С29 по хромосоме 5A от озимых доноров Ск35 и М808 с диаметром частиц муки соответственно 27 и 25 мк.

Таким образом, сравнительный анализ качества зерна растений позволил выделить две линии пшеницы С29 с межсортовым замещением хромосомы 5D от высокобелковых доноров А66 и Дм2 с максимальными показателями изученных признаков.

Интрогрессия генов устойчивости к патогенам в мягкую пшеницу от амфидиплоида *T. timopheevii* Zhuk. × *Ae. tauschii* Coss. В полевых экспериментах в естественных условиях и на инфекционном участке показано, что иммунные линии пшеницы С29 характери-

зуются комплексной устойчивостью к болезням. Генетический анализ потомств $BC_5F_2-BC_8F_2$ показал, что устойчивость к бурой ржавчине и мучнистой росе контролируется одним или двумя неаллельными доминантными генами (Лайкова и др., 2004б). Кроме того, не выявлено аллелизма между *Lr*-генами иммунных линий и известными эффективными генами (*Lr9*, *Lr19*, *Lr24*, *Lr23*, *Lr32*). Эти данные показывают, что линии содержат неизвестные *Lr*-гены, контролирующие устойчивость растений к бурой ржавчине. Было установлено, что у иммунных линий QTL устойчивости к листовой ржавчине локализованы на хромосомах 2B и 2D (Leonova *et al.*, 2007).

Показано, что чужеродные гены, интрогрессированные из синтетической пшеницы, не оказали отрицательного влияния на продуктивность и качество зерна иммунных линий С29, а ряд линий по таким признакам, как содержание клейковины, белка и физические свойства теста, превосходят сорт-реципиент С29 (Лайкова и др., 2007). Оценка большого числа гибридных образцов, полученных от скрещивания иммунных линий сорта С29 с линиями омской селекции в селекционных питомниках СибНИИСХ (г. Омск), позволила выявить перспективные среднеранние, среднеспелые и среднепоздние линии пшеницы, устойчивые к грибным болезням и превышающие по урожайности сорта-

стандарты: Памяти Азиева, Омская 18, Омская 28, Омская 29.

Таким образом, проведенные нами многолетние генетические исследования с использованием коллекций анеуплоидных и замещенных линий мягкой пшеницы свидетельствуют о важности методов хромосомной инженерии в изучении влияния отдельных хромосом на проявление хозяйственно ценных признаков, локализации и картирования генов.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ (07-04-00857), программы Президиума РАН «Динамика генофондов и биоразнообразие», федеральной целевой программы РФ (Госконтракт 02.512.11.2256) и комплексного интеграционного проекта СО РАН (№ 3).

Литература

- Лайкова Л. И., Арбузова В.С., Ефремова Т.Т., Попова О.М. Создание иммунных линий сорта мягкой пшеницы Саратовская 29 с комплексной устойчивостью к грибам бурой ржавчины и мучнистой росы // Генетика. 2004а. Т. 40. № 5. С. 631–635.
- Лайкова Л.И., Арбузова В.С., Ефремова Т.Т., Попова О.М. Изучение устойчивости к грибным болезням потомств гибридов от скрещивания сорта мягкой пшеницы Саратовская 29 с амфидиплоидом *Triticum timopheevii/Triticum tauschii* (AAGGDD) // Генетика. 2004б. Т. 40. № 9. С. 1274–1279.
- Лайкова Л.И., Арбузова В.С., Ефремова Т.Т. и др. Оценка продуктивности и качества зерна у иммунных линий мягкой пшеницы сорта Саратовская 29 // С.-х. биология. 2007. № 5. С. 75–85.
- Лайкова Л.И., Гайдаленок Р.Ф., Майстренко О.И. Метод создания серии дителосомных линий мягкой пшеницы Саратовская 29 и их цитологическое изучение // Цитология и генетика. 1988. Т. 22. № 1. С. 41–45.
- Майстренко О.И. Состояние и задачи исследований по созданию новых серий анеуплоидов мягкой пшеницы // Цитогенетические исследования анеуплоидов мягкой пшеницы. Новосибирск, 1973а. С. 9–23.
- Майстренко О.И. Локализация хромосом, несущих гены *Vrn1* и *Vrn3*, подавляющие озимость у пшеницы // Цитогенетические исследования анеуплоидов мягкой пшеницы. Новосибирск, 1973б. С. 169–177.
- Майстренко О.И. Идентификация и локализация генов, контролирующего опущение листа молодых растений мягкой пшеницы // Генетика. 1976. Т. XII. № 5. С. 5–15.
- Майстренко О.И. Использование цитогенетических методов в исследовании онтогенеза мягкой пшеницы // Онтогенетика высших растений. Кишинев: Штиинца, 1992. С. 98–114.
- Arbuzova V.S., Maystrenko O.I., Popova O.M. Development of near-isogenic lines of the common wheat cultivar *Saratovskaya 29* // Cereal Res. Commun. 1998. V. 26. № 1. P. 39–46.
- Devos K.M., Sorrells M.E., Anderson J.A. *et al.* Chromosome aberrations in wheat nullisomic-tetrasomic and ditelosomic lines // Cereal Res. Commun. 1999. V. 27. № 3. P. 231–239.
- Dobrovolskaya O., Arbuzova V.S., Louhwasser U. *et al.* Microsatellite mapping of complementary genes for purple grain colour in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) // Euphytica. 2006. V. 150. P. 355–364.
- Efremova T.T., Maystrenko O.I., Arbuzova V.S., Laikova L.I. Genetic analysis of glume colour in common wheat cultivars from the former USSR // Euphytica. 1998. V. 102. P. 211–218.
- Efremova T.T., Leonova I.N., Arbuzova V.S., Laikova L.I. Development of inter-varietal chromosome substitution lines of wheat (*Triticum aestivum* L.) bearing a rye genetic marker and their verification with microsatellite markers // Cereal Res. Commun. 2006a. V. 34. № 2/3. P. 973–980.
- Efremova T.T., Maystrenko O.I., Arbuzova V.S. *et al.* Effect of alien 5R(5A) chromosome substitution on ear-emergence time and winter hardiness in wheat-rye substitution lines // Euphytica. 2006b. V. 151. P. 145–153.
- Efremova T.T., Arbuzova V.S., Laikova L.I. *et al.* Study of multiple allelism of the *VRN-1* locus in common wheat // Proc. of the 14th Intern. EWAC Conf. Istanbul, Turkey, 6–10 May, 2007. EWAC Newsletter, 2008. P. 110–112.
- Friebe B., Raupp W.J., Gill B.S. Alien genes in wheat improvement // Wheat in a global environment / Eds Z. Bedö, L. Lóng. 5–9 June 2000, Budapest, Hungary. 2001. V. 9. P. 709–720.
- Leonova I.N., Laikova L.I., Popova O.M. *et al.* Detection of quantitative trait loci for leaf rust resistance in wheat-*T. timopheevii/T. tauschii* introgression lines // Euphytica. 2007. V. 155. P. 79–86.
- Law C.N., Worland A.J. Aneuploidy in wheat and its uses in genetic analysis // Plant Breeding Institute Annual Report. 1973. P. 25–65.
- Law C.N., Young C.F., Brown J.W.S. *et al.* The study of grain protein control in wheat using whole chromosome substitution lines // Seed protein improvement by nuclear techniques. Vienna: Int. Atomic Energy Agency, 1978. P. 483–502.
- Maystrenko O.I., Laikova L.I. Chromosomal localization and linkage relationship of the *Pan1* and *Pc2* genes

- controlling anthocyanin pigmentation of the anthers and culm in common wheat // Proc. of the 9th EWAC Conf. Gatersleben-Wernigerode (Germany), 1994. EWAC Newsletter, 1995. P. 120–122.
- Maystrenko O.I., Laikova L.I., Arbuzova V.S., Melnik V.M. The chromosomal location of the *S1*, *S2* and *S3* genes of induced sphaerococcoid mutations in common wheat // Proc. of the 10th EWAC meeting. Viterbo (Italy), 16–19 June. 1997. EWAC Newsletter, 1998. P. 127–130.
- Malyshev S., Korzun V., Efremova T.T., Börner A. Inheritance and molecular mapping of a gene determining vernalization response in the Siberian spring rye variety 'Onokhoiskaya' // Cereal Res. Commun. 2001. V. 29. P. 259–265.
- McIntosh R.A., Devos K.M., Dubcovsky J. *et al.* 2006. Catalogue of gene symbols for wheat: 2006 Suppl. <http://wheat.pw.usda.gov/>
- Pestsova E., Salina E., Börner A. *et al.* Microsatellites confirm the authenticity of inter-varietal chromosome substitution lines of wheat (*Triticum aestivum* L.) // Theor. Appl. Genet. 2000. V. 101. P. 95–99.
- Rabinovich S.V. Importance of wheat-rye translocations for breeding modern cultivars of *Triticum aestivum* L. // Euphytica. 1998. V. 100. P. 323–340.
- Salina E., Börner A., Leonova I. *et al.* Microsatellite mapping of the induced sphaerococcoid mutation genes in *Triticum aestivum* L. // Theor. Appl. Genet. 2000. V. 100. P. 686–689.
- Sears E.R. The aneuploids of common wheat // Missouri. Agric. Exptl. Sta. Res. Bull. 1954. № 572. P. 1–58.
- Shchapova A.I., Kravtsova L.A. The production of wheat-rye substitution lines by using the Giemsa staining technique // Cereal Res. Commun. 1982. V. 10. P. 33–39.
- Unrau J., Person C., Kuspira J. Chromosome substitution in hexaploid wheat // Can. J. Bot. 1956. 34. P. 629–640.
- Worland A.J. Catalogue of monosomic series // Proc. of the 7th Intern. Wheat Genet Symp. / Eds R. Koebner, T.E. Miller. Cambridge, UK. 1988. V. 2. P. 1399–1403.

PRESERVING GENETIC DIVERSITY OF ANEUPLOID AND SUBSTITUTION LINES AND THEIR USE IN RESEARCH OF COMMON WHEAT

T.T. Efremova, L.I. Laikova, V.S. Arbuzova, O.M. Popova

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

Summary

A genetic collection of monosomic and ditelosomic lines of common wheat varieties Saratovskaya 29 and Diamant were obtained in ICG SB RAS. Also we are supporting a series of lines on the aneuploids of cv. Chinese Spring, developed by E. Sears. On the basis of the monosomic lines, sets of inter-varietal and alien substitutions of individual chromosomes or their fragments were obtained with the use of different varieties of *Triticum aestivum* L. and representatives of other taxonomic groups (*Secale cereale* L., *Aegilops tauschii* Coss., *Triticum timopheevii* Zhuk.). Sets of aneuploids and substitution lines were used for studying genetic effects of individual chromosomes on manifestation of agronomically-useful traits, localization and mapping genes. Special attention has been paid to development and effectiveness evaluation of methods of task-oriented and accelerated transfer of chromosomes or their fragments which contained desirable genes from varieties and related species to wheat genome.