

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 575.222.73:577.2

DOI: 10.29235/1029-8940-2018-63-2-146-154

Поступила в редакцию 27.09.2017

Received 27.09.2017

Н. И. Дубовец¹, Е. А. Сычева¹, Н. И. Дробот¹, Е. Б. Бондаревич¹,
Л. А. Соловей¹, О. Г. Силкова²

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

²Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН, Новосибирск, Российская Федерация

**ПРЕБРИДИНГОВАЯ ОЦЕНКА РЕКОМБИНАНТНЫХ
И ИНТРОГРЕССИВНЫХ ПШЕНИЧНО-РЖАНЫХ ГИБРИДОВ
ПО АЛЛЕЛЬНОМУ СОСТАВУ ГЕНОВ КОРОТКОСТЕБЕЛЬНОСТИ
Rht-B1, *Rht-D1*, *Rht8* И *Ddw1***

Аннотация. Представлены результаты анализа геномной структуры и аллельного состава генов короткостебельности *Rht-B1*, *Rht-D1*, *Rht8* и *Ddw1* у 33 вторичных рекомбинантных линий (ВРЛ) гексаплоидных тритикале с различными типами D(A)- и D(B)-замещений хромосом и у 8 интрогрессивных линий пшеницы с R(A)-, R(B)- и R(D)-замещениями хромосом. Установлено, что генотипы ВРЛ в подавляющем большинстве содержат аллель *Rht-B1b* в гомозиготном состоянии и только 9 из них, так же как и все интрогрессивные линии пшеницы, являются гомозиготными по аллелю *Rht-B1a*, а 4 линии неоднородны по аллельному составу гена *Rht-B1*. У всех исследованных ВРЛ присутствовал аллель *Rht8a* (165 п. н.), тогда как у интрогрессивных линий выявлен аллель *Rht8b* (174 п. н.). Гетерозиготными по аллельному составу гена *Rht-D1* (*Rht-D1a/Rht-D1b*) являлись 5 интрогрессивных линий пшеницы. У 3 линий наряду с гетерозиготными встречались растения, гомозиготные по аллелям *Rht-D1a* и *Rht-D1b*. Образцов, несущих ген *Ddw1*, не выявлено. По результатам генотипирования отобраны ВРЛ гексаплоидных тритикале с геном *Rht-B1b*, перспективные для использования в селекции на устойчивость к полеганию.

Ключевые слова: пшенично-ржаные гибриды, хромосомно-замещенные линии, короткостебельность, кариотип, С-бэндинг, ДНК-маркеры

Для цитирования: Пребридинговая оценка рекомбинантных и интрогрессивных пшенично-ржаных гибридов по аллельному составу генов короткостебельности *Rht-B1*, *Rht-D1*, *Rht8* и *Ddw1* / Н. И. Дубовец [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2018. – Т. 63, № 2. – С. 146–154. DOI: 10.29235/1029-8940-2018-63-2-146-154

N. I. Dubovets¹, Y. A. Sycheva¹, N. I. Drobot¹, Y. B. Bondarevich¹,
L. A. Solovey¹, O. G. Silkova²

¹Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

²Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of Russian Academy of Sciences,
Novosibirsk, Russian Federation

**PREBREEDING ASSESSMENT OF DWARFING GENES *Rht-B1*, *Rht-D1*, *Rht8* AND *Ddw1* ALLELIC
COMPOSITION IN RECOMBINANT AND INTROGRESSIVE WHEAT-RYE HYBRIDES**

Abstract. The results of the analysis of genomic structure and allelic composition of the dwarf genes *Rht-B1*, *Rht-D1*, *Rht8* and *Ddw1* in 33 secondary recombinant lines (SRL) of hexaploid triticale with various types of D(A)- and D(B)-chromosome substitutions and 8 introgressive wheat lines with R(A)-, R(B)- and R(D)-chromosome substitutions are presented. It was found that in the overwhelming majority SRL genotypes contain the *Rht-B1b* allele in the homozygous state. Nine SRLs and all introgressive wheat lines are homozygous by the *Rht-B1a* allele; 4 lines are heterogeneous in the allelic composition of the *Rht-B1* gene. The *Rht8a* allele (165 bp) was present in all the investigated SRLs, whereas the *Rht8b* allele (174 bp) was detected in introgressive wheat lines. Five introgressive wheat lines were heterozygous by the allelic composition of the *Rht-D1* (*Rht-D1a/Rht-D1b*) gene. In three lines, along with the *Rht-D1a/Rht-D1b* genotype, plants homozygous for the *Rht-D1a* and *Rht-D1b* alleles were found. No samples bearing the *Ddw1* gene were identified. Based on the genotyping results, SRL of hexaploid triticale with the *Rht-B1b* gene – promising for use in breeding for lodging resistance – were selected.

Keywords: wheat-rye hybrids, chromosome-substituted lines, introgressive wheat lines, semi-dwarfing alleles, karyotype, C-banding, DNA-markers

For citation: Dubovets N. I., Sycheva Y. A., Drobot N. I., Bondarevich Y. B., Solovey L. A., Silkova O. G. Prebreeding assessment of dwarfing genes *Rht-B1*, *Rht-D1*, *Rht8* and *Ddw1* allelic composition in recombinant and introgressive wheat-rye hybrids. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnych navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2018, vol. 63, no. 2, pp. 146–154 (in Russian). DOI: 10.29235/1029-8940-2018-63-2-146-154

Введение. Современная селекция растений включает целый комплекс методов, базирующихся на последних достижениях генетики и клеточной биологии. В генетико-селекционных программах по тритикале и пшенице большое внимание уделяется применению хромосомно-инженерных технологий, значительно расширяющих возможности целенаправленного преобразования генетической структуры культурных видов растений с целью обогащения их генофонда. В качестве исходного материала для селекции используются линии с замещениями и транслокациями. При этом одним из основных источников для улучшения тритикале является генный пул D-генома мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. [1–4], тогда как в программах по разведению пшеницы широкое применение нашла гибридизация с рожью *Secale cereale* L. [5–9]. Эффективность выявления и оценки перспективного исходного материала для селекционной работы значительно повышается при сочетании хромосомных технологий с маркер-сопутствующим отбором [10, 11].

Цель работы – выявление аллелей, обеспечивающих устойчивость растений к полеганию, с помощью ДНК-типирования генов короткостебельности у рекомбинантных и интрогрессивных форм пшенично-ржаных гибридов, созданных методами хромосомной инженерии.

Материалы и методы исследования. Объектами исследования служили:

33 линии вторичных рекомбинантных (ВРЛ) гексаплоидных тритикале с интрогрессией хромосом D-генома пшеницы в виде D(A)- и D(B)-замещений селекции ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси»;

8 пшенично-ржаных замещенных линий (ПРЗЛ) с различными типами R(A)-, R(B)- и R(D)-замещений хромосом селекции ФИЦ «Институт цитологии и генетики СО РАН»: ПРЗЛ-1 – 1Rv(1A), ПРЗЛ-2 – 1Ron.(1A), ПРЗЛ-3 – 2R(2D), ПРЗЛ-4 – 2R(2D)₂, ПРЗЛ-5 – 2R(2D)₃, ПРЗЛ-6 – 3R(3B), ПРЗЛ-7 – 5R(5A), ПРЗЛ-8 – 6R(6A) (линии 2R(2D), 2R(2D)₂ и 2R(2D)₃ отличались по количеству ДНК сорта Саратовская 29, в то время как другой составляющей бэкграунда являлся сорт пшеницы Новосибирская 67).

Геномную структуру экспериментального материала определяли с помощью одного из вариантов метода дифференциального окрашивания хромосом по Гимза (С-бэндинг), разработанного в Институте молекулярной биологии РАН [12]. Для анализа препаратов использовали микроскоп Ампливал (Карл Цейс, Йена) с объективом Апохромат (×100, апертура 1,32 МИ). Идентификацию индивидуальных хромосом A-, B-, D- и R-геномов осуществляли согласно обобщенной видовой идиограмме дифференциально окрашенных хромосом [13]. Для получения изображения в цифровом формате использовали систему анализа изображений. Обработку полученного изображения метафазной пластинки осуществляли с помощью графического редактора Photoshop (версия 5.0).

Для выделения и очистки ДНК использовали готовые наборы реактивов Genomic DNA Purification Kit K0512 (Fermentas, Литва), для выявления аллельного состава генов короткостебельности *Rht-B1b*, *Rht-D1* и *Rht8* – праймеры в модификации X. Zhang с соавт. [14]. Наличие гена *Ddw1* определяли с помощью микросателлитного маркера REMS1218 [15]. Продукты ПЦР фракционировали методом горизонтального электрофореза в 1,5 %-ном агарозном геле в 1×TAE буфере в течение 45–60 мин при напряжении в 80–100 В. Результат документировали в системе гель-документации QUANTUM ST4-1100. Для точного определения размера амплифицированных фрагментов с SSR-маркерами проведен фрагментный анализ продуктов ПЦР. Данные анализировали с помощью прибора AppliedBiosystems 3500 Genetic Analyzer и прилагаемой к нему программы.

Результаты и их обсуждение. *Анализ геномной структуры экспериментального материала.* При проведении исследований с использованием отдаленных гибридов и рекомбинантных форм обязательным условием является точное знание геномной структуры включенных в анализ образцов, что позволяет целенаправленно подбирать праймеры для идентификации аллелей хозяйственно-полезных генов. В связи с этим все задействованные в эксперименте пшенично-ржаные гибриды были кариотипированы с помощью метода С-бэндинга. Полученные данные представлены в табл. 1.

Т а б л и ц а 1. Типы межгеномных замещений хромосом у вторичных рекомбинантных линий гексаплоидных тритикале

T a b l e 1. Types of intergenomic chromosome substitutions in the secondary recombinant lines of hexaploid triticales

Линия	Комбинация скрещивания	Типы межгеномных замещений хромосом
ВРЛ-1/2015	Лана × ПРЛ-2	1D(1A), 2D(2B)
ВРЛ-2/2015	Лана × ПРЛ-3	1D(1A), 6D(6B)
ВРЛ-3/2015	Кargo × ПРЛ-6	2D(2B), 3D(3A)
ВРЛ-4/2015	Кargo × ПРЛ-6	3D(3A)
ВРЛ-5/2015	Кargo × ПРЛ-3	1D(1A)
ВРЛ-6/2015	Кargo × ПРЛ-1	1D(1A)
ВРЛ-7/2015	Кargo × ПРЛ-5	1D(1A), 3D(3A)
ВРЛ-8/2015	Кargo × ПРЛ-5	1D(1A), 2D(2B)
ВРЛ-9/2015	Кargo × ПРЛ-5	1D(1A), 2D(2B), 3D(3A)
ВРЛ-10/2015	Кargo × ПРЛ-8	3D(3A)
ВРЛ-11/2015	Лана × ПРЛ-7	1D(1A), 2D(2B), 6D(6B)
ВРЛ-12/2015	Miesko × ПРЛ-7	2D(2B)
ВРЛ-13/2015	Miesko × ПРЛ-7	1D(1A), 2D(2B), 3D(3A)
ВРЛ-14/2015	Miesko × ПРЛ-3	1D(1A)
ВРЛ-15/2015	Miesko × ПРЛ-3	1D(1A)
ВРЛ-16/2015	Miesko × ПРЛ-3	1D(1A)
ВРЛ-17/2015	Miesko × ПРЛ-3	1D(1A), mono-6D(6A)
ВРЛ-18/2015	Miesko × ПРЛ-4	1D(1A)
ВРЛ-19/2015	Miesko × ПРЛ-4	1D(1A), mono-2D(2A), mono-2D(2B), 6D(6B) 1D(1A), 2D(2B), 6D(6B)
ВРЛ-20/2015	Miesko × ПРЛ-4	1D(1A), 6D(6B), 1D(1A), 6D(6B), 1D(1A), mono-6D(6A)
ВРЛ-21/2015	Лана × ПРЛ-1	1D(1A)
ВРЛ-22/2015	Лана × ПРЛ-1	1D(1A)
ВРЛ-23/2015	Лана × ПРЛ-1	1D(1A)
ВРЛ-24/2015	Лана × ПРЛ-1	1D(1A)
ВРЛ-25/2015	Лана × ПРЛ-2	2D(2B)
ВРЛ-26/2015	Лана × ПРЛ-3	6D(6B)
ВРЛ-27/2015	Лана × ПРЛ-3	1D(1A), 6D(6B)
ВРЛ-28/2015	Лана × ПРЛ-3	6D(6B)
ВРЛ-29/2015	Кargo × ПРЛ-1	1D(1A)
ВРЛ-30/2015	Кargo × ПРЛ-1	1D(1A)
ВРЛ-31/2015	Кargo × ПРЛ-3	1D(1A)
ВРЛ-32/2015	Кargo × ПРЛ-3	1D(1A)
ВРЛ-33/2015	Кargo × ПРЛ-3	1D(1A)

Как видно из данных табл. 1, из 33 ВРЛ 30 имели стабильный одновариантный кариотип с интродукцией хромосом D-генома пшеницы различных гомеологических групп в дисомном состоянии (рис. 1). Три ВРЛ характеризовались неоднородным хромосомным составом и незавершенностью процесса стабилизации кариотипа. У ВРЛ-17/2015 выявлено замещение mono-6D(6A), у ВРЛ-19/2015 – два варианта кариотипа, в том числе с замещениями mono-2D(2A) и mono-2D(2B), у ВРЛ-20/2015 – четыре варианта кариотипа, в том числе с замещением mono-6D(6A). Ржаной компонент кариотипа всех ВРЛ был представлен диплоидным набором хромосом ржи. Случаев замещений или перестроек хромосом ржи не выявлено.

Анализ геномной структуры пшенично-ржаных замещенных линий подтвердил первичные данные [16] о наличии у них соответствующих R(A)-, R(B)- и R(D)-замещений хромосом (рис. 2).

Анализ аллельного состава генов короткостебельности. Известно, что формирование короткостебельности у тритикале определяется как генами пшеничного компонента кариотипа,

так и генами ржи. На настоящий момент идентифицировано более 20 генов короткостебельности пшеницы и показано наличие как минимум 5 генетических систем, детерминирующих снижение высоты растений у ржи [17–21]. В данном исследовании у пшенично-ржаных гибридов изучен аллельный состав главных генов короткостебельности *Triticum aestivum* (*Rht-Bl*, *Rht-D1* и *Rht8*) и *Secale cereale* (*Ddw1*), наиболее часто применяющихся в селекционных программах.

Проведенный нами предварительный анализ геномной структуры пшенично-ржаных гибридов с помощью дифференциального окрашивания хромосом по Гимза дал возможность целенаправленно использовать ПЦР-маркеры для идентификации аллелей генов короткостебельности.

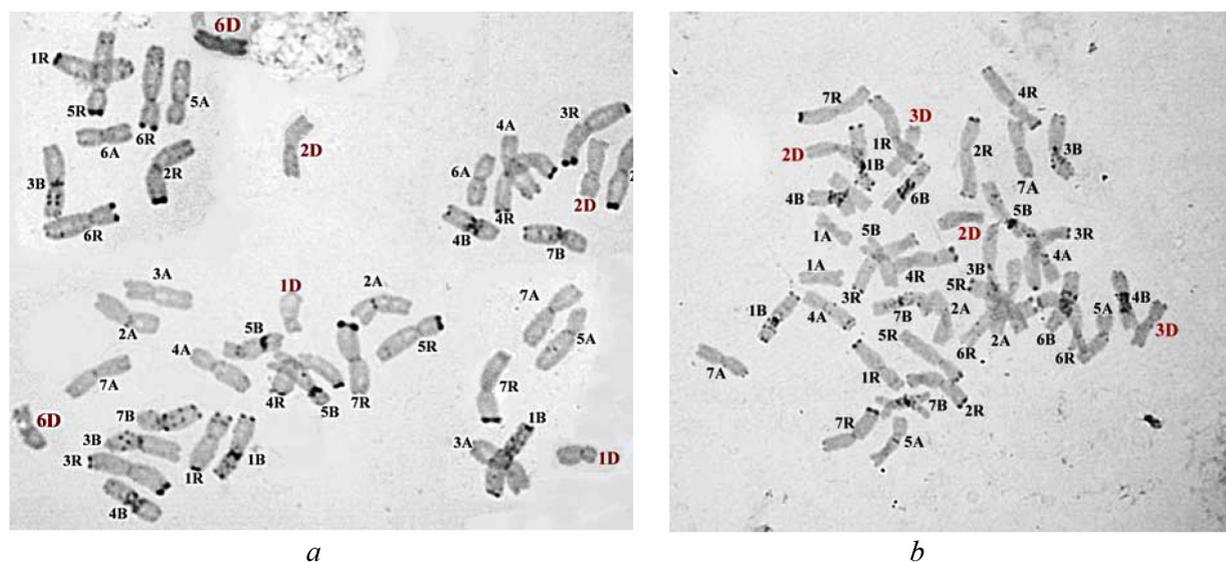


Рис. 1. Кариотипы вторичных рекомбинантных линий тритикале ВРЛ-11/2015 с 1D(1A)-, 2D(2B)- и 6D(6B)-замещениями (а) и ВРЛ-3/2015 с 2D(2B)- и 3D(3A)-замещениями хромосом (b) (С-бэндинг)

Fig. 1. Karyotypes of secondary recombinant lines of triticale SRL-11/2015 with 1D(1A)-, 2D(2B)- and 6D(6B)-substitutions (a) and SRL-3/2015 with 2D(2B)- and 3D(3A)-substitution of chromosomes (b) (C-banding)

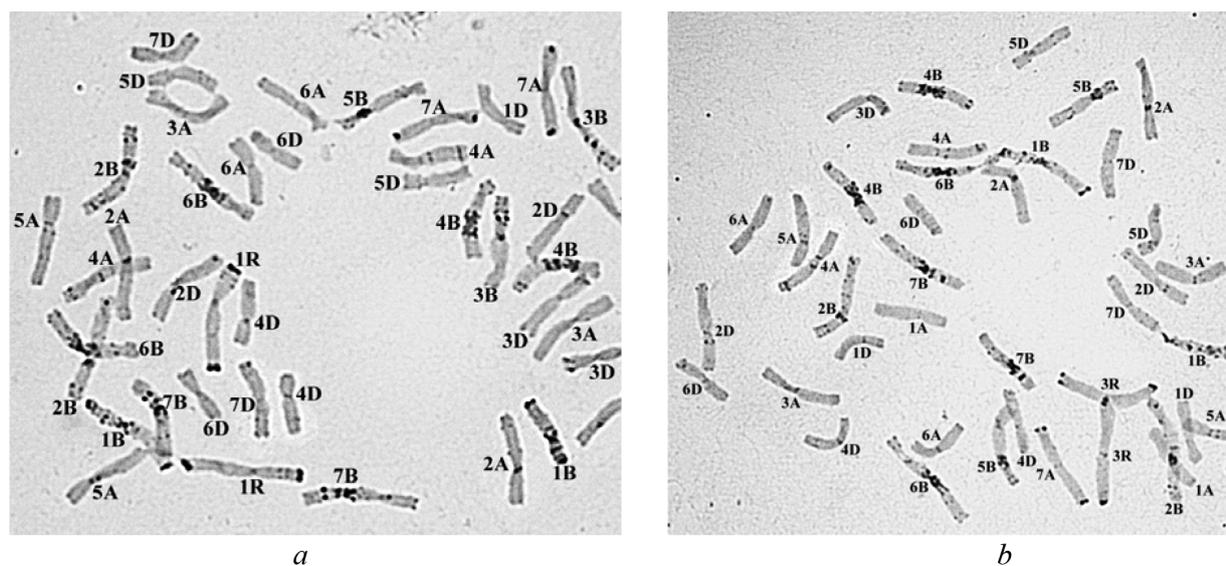


Рис. 2. Кариотипы пшенично-ржаных замещенных линий ПРЗЛ-1 с 1R(1A)-замещением хромосом (а) и ПРЗЛ-6 с 3R(3B)-замещением (b) (С-бэндинг)

Fig. 2. Karyotypes of wheat-rye substitution lines WRSL-1 with 1R(1A)-substitution of chromosomes (a) and WRSL-6 with 3R(3B)- substitution (b) (C-banding)

Как известно, ген *Rht-B1* локализован в коротком плече хромосомы 4В и имеет 7 аллелей (*b, c, d, e, f, g, Rht-B1^{IC2196}*), образовавшихся в результате различных мутаций [18, 22–24]. Интерес для селекции представляют аллели *Rht-B1b* и *Rht-B1e*, присутствие которых приводит к существенному снижению высоты растений.

Анализ рабочей коллекции по аллельному составу гена *Rht-B1* показал, что 20 ВРЛ тритикале содержат мутантный аллель *Rht-B1b* в гомозиготном состоянии (табл. 2, рис. 3), 9 ВРЛ и все 8 ПРЗЛ являются гомозиготными по дикому аллелю *Rht-B1a* (рис. 4), тогда как линии ВРЛ-15/2015, ВРЛ-18/2015, ВРЛ-20/2015, ВРЛ-28/2015 неоднородны по аллельному составу гена *Rht-B1*.

Т а б л и ц а 2. Аллельный состав генов короткостебельности у вторичных рекомбинантных линий гексаплоидных тритикале

Table 2. Allelic composition of dwarfing genes in the secondary recombinant lines of hexaploid triticales

Линия	Аллельный состав генов короткостебельности		
	<i>Rht-B1</i>	<i>Rht8</i>	<i>Ddw1</i>
ВРЛ-1/2015	<i>Rht-B1b</i>	<i>Rht8a</i>	–
ВРЛ-2/2015	<i>Rht-B1b</i>	–	–
ВРЛ-3/2015	<i>Rht-B1b</i>	<i>Rht8a</i>	–
ВРЛ-4/2015	<i>Rht-B1b</i>	–	–
ВРЛ-5/2015	<i>Rht-B1b</i>	–	–
ВРЛ-6/2015	<i>Rht-B1b</i>	–	–
ВРЛ-7/2015	<i>Rht-B1b</i>	–	–
ВРЛ-8/2015	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht8a</i>	–
ВРЛ-9/2015	<i>Rht-B1b</i>	<i>Rht8a</i>	–
ВРЛ-10/2015	<i>Rht-B1a</i>	–	–
ВРЛ-11/2015	<i>Rht-B1b</i>	<i>Rht8a</i>	–
ВРЛ-12/2015	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht8a</i>	–
ВРЛ-13/2015	<i>Rht-B1b</i>	<i>Rht8a</i>	–
ВРЛ-14/2015	<i>Rht-B1a</i>	–	–
ВРЛ-15/2015	<i>Rht-B1a/Rht-B1b</i>	–	–
ВРЛ-16/2015	<i>Rht-B1a</i>	–	–
ВРЛ-17/2015	<i>Rht-B1a</i>	–	–
ВРЛ-18/2015	<i>Rht-B1a/Rht-B1b</i>	–	–
ВРЛ-19/2015	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht8a</i>	–
ВРЛ-20/2015	<i>Rht-B1a/Rht-B1b</i>	–	–
ВРЛ-21/2015	<i>Rht-B1b</i>	–	–
ВРЛ-22/2015	<i>Rht-B1b</i>	–	–
ВРЛ-23/2015	<i>Rht-B1b</i>	–	–
ВРЛ-24/2015	<i>Rht-B1b</i>	–	–
ВРЛ-25/2015	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht8a</i>	–
ВРЛ-26/2015	<i>Rht-B1a</i>	–	–
ВРЛ-27/2015	<i>Rht-B1b</i>	–	–
ВРЛ-28/2015	<i>Rht-B1a/Rht-B1b</i>	–	–
ВРЛ-29/2015	<i>Rht-B1b</i>	–	–
ВРЛ-30/2015	<i>Rht-B1b</i>	–	–
ВРЛ-31/2015	<i>Rht-B1b</i>	–	–
ВРЛ-32/2015	<i>Rht-B1b</i>	–	–
ВРЛ-33/2015	<i>Rht-B1b</i>	–	–

Для гена *Rht-D1*, локализованного в хромосоме 4D, выявлены 4 аллеля (*a, b, d* и *c*) [23]. Известно, что присутствие дикого аллеля гена *Rht-D1a* не приводит к укорачиванию длины соломки, тогда как наличие мутантных аллелей короткостебельности *Rht-D1b* и *Rht-D1c* снижает высоту растений пшеницы до 25 и ≈50 % соответственно [25, 26].

Поскольку ген короткостебельности *Rht-D1* локализован в коротком плече хромосомы 4D, из пшенично-ржаных гибридов, включенных в рабочую коллекцию, соответствующий геномный

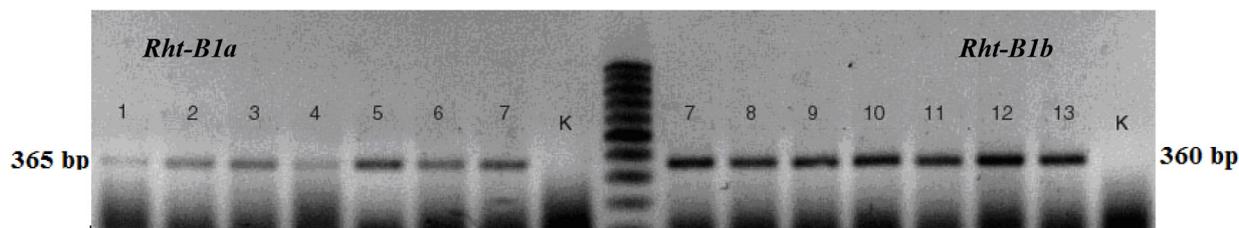


Рис. 3. Электрофореграмма детекции аллелей *Rht-B1a* и *Rht-B1b* у вторичных рекомбинантных линий тритикале: 1, 2 – ВРЛ-8/2015; 3, 4 – ВРЛ-12/2015; 5, 6 – ВРЛ-25/2015; 7 – ВРЛ-20/2015; 8, 9 – ВРЛ-2/2015; 10–12 – ВРЛ-7/2015; 13 – сорт Kargo (положительный контроль на *Rht-B1b*); М – маркер молекулярного веса Праймтех™, М100 bp; К – отрицательный контроль (ПЦР-смесь без ДНК-матрицы)

Fig. 3. Electrophoregram of *Rht-B1a* and *Rht-B1b* allele detection in secondary recombinant triticale lines: 1, 2 – SRL-8/2015; 3, 4 – SRL-12/2015; 5, 6 – SRL-25/2015; 7 – SRL-20/2015; 8, 9 – SRL-2/2015; 10–12 – SRL-7/2015; 13 – variety Kargo (positive control for *Rht-B1b*); M – molecular weight marker Praymtekh™, M100 bp; K – negative control (PCR mixture without DNA matrix)

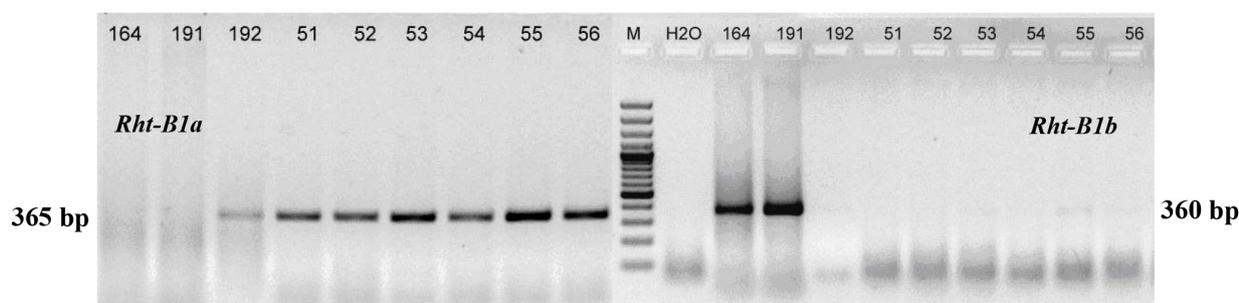


Рис. 4. Электрофореграмма детекции аллелей *Rht-B1a* и *Rht-B1b* у пшенично-ржаной замещенной линии ПРЗЛ-1: 164, 191 – положительный контроль на аллель *Rht-B1b* (сорт тритикале Kargo); 192 – положительный контроль на *Rht-B1a*; 51–56 – пшенично-ржаная замещенная линия ПРЗЛ-1; М – маркер молекулярного веса GeneRuler™ 100 bpDNA Ladder

Fig. 4. Electrophoregram of *Rht-B1a* and *Rht-B1b* allele detection in wheat-rye substitution line WRSЛ-1: 164, 191 – positive control for allele *Rht-B1b* (triticale variety Kargo); 192 – positive control for allele *Rht-B1a*; 51–56 – wheat-rye substitution line WRSЛ-1; M – molecular weight marker GeneRuler™ 100 bpDNA Ladder

состав имели только ПРЗЛ. Молекулярно-генетический анализ показал, что растения линий ПРЗЛ-1, ПРЗЛ-4, ПРЗЛ-5, ПРЗЛ-6 и ПРЗЛ-7 гетерозиготны по аллельному составу гена *Rht-D1* (*Rht-D1a/Rht-D1b*). У линии ПРЗЛ-2 большинство проанализированных растений содержали гетерозиготу *Rht-D1a/Rht-D1b*, однако встречались и гомозиготные по дикому аллелю *Rht-D1a* растения. У линий ПРЗЛ-3 и ПРЗЛ-8, напротив, помимо гетерозиготных генотипов отмечены единичные растения, гомозиготные по мутантному аллелю *Rht-D1b*.

Для изучения аллельного состояния гена *Rht8*, локализованного в хромосоме 2DS, используется сцепленный с ним микросателлитный локус *Xgwm261*. Всего выявлено 20 аллелей данного локуса (а следовательно, и гена *Rht8*), но наиболее распространенными являются аллели длиной 165, 174 и 192 п. н. Показано, что наличие у пшеницы дикого аллеля гена *Rht8a* (*Xgwm261*₁₆₅) не влияет на высоту растений, присутствие же аллелей *Rht8c* (*Xgwm261*₁₉₂) и *Rht8b* (*Xgwm261*₁₇₄) снижает высоту примерно на 8 и 3,2 см соответственно [26].

Аллельный состав гена *Rht8* изучен у 9 ВРЛ тритикале, в геноме которых, согласно данным кариотипирования, присутствует хромосома 2D (см. табл. 1), и у 5 ПРЗЛ (за исключением линий с 2R(2D)-замещением). В ходе фрагментного анализа полученных продуктов ПЦР установлено, что у всех исследованных ВРЛ присутствует аллель дикого типа *Rht8a* (165 п. н.), тогда как пшенично-ржаные замещенные линии несут аллель *Rht8b* (174 п. н.). Коммерческий аллель *Rht8c* данного гена, обуславливающий существенное снижение высоты растения, в исследованном материале не выявлен.

Помимо генов короткостебельности пшеницы в геноме пшенично-ржаных гибридов могут присутствовать гены короткостебельности ржи. Наиболее удобным и значимым для селекции

является тип короткостебельности, обеспечивающийся одним доминантным геном – *Ddw1*. Установлено, что ген *Ddw1* расположен на длинном плече хромосомы 5R [27] и тесно сцеплен с микросателлитным локусом *REMS1218*, который используют для идентификации данного гена [15]. В ходе генотипирования экспериментального материала с помощью микросателлитного маркера *REMS1218* образцов, несущих ген *Ddw1*, не выявлено.

Заключение. Молекулярно-цитогенетическое маркирование (С-бэндинг) включенных в исследование рекомбинантных и интрогрессивных форм пшенично-ржаных гибридов, в ходе которого получена точная информация о хромосомном составе экспериментального материала, позволило целенаправленно подобрать праймеры для дальнейшей идентификации в нем аллелей генов короткостебельности. С помощью ПЦР с подобранными праймерами проведено генотипирование по генам *Rht-B1*, *Rht-D1*, *Rht8* и *Ddw1*, обуславливающим формирование короткостебельности. По результатам генотипирования отобраны вторичные рекомбинантные линии гексаплоидных тритикале с геном *Rht-B1b*, перспективные для использования в селекции на устойчивость к полеганию.

Благодарности. Исследование выполнено при частичной финансовой поддержке грантов Российского научного фонда (№16-16-00011) и Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (№ Б15СО-030).

Acknowledgements. The study was supported by the Russian Science Foundation (no. 16-16-00011) and Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research (no. B15CO-030).

Список использованных источников

1. A study on spring hexaploid triticales with mixed wheat component of karyotype / N. I. Dubovets [et al.] // Proc. 5th Inter. Triticale Symposium, Radzikow, Poland, June 30 – July 5, 2002 / ed. : E. Arseniuk. – I HAR, 2002. – Vol. 2. – P. 303–310.
2. Создание коллекции хромосомно-замещенных линий гексаплоидных тритикале и ее использование в практической селекции и цитогенетических исследованиях / Н. И. Дубовец [и др.] // Молекулярная и прикладная генетика : сб. науч. тр. / Ин-т генетики и цитологии НАН Беларуси ; редкол. : А. В. Кильчевский (гл. ред.) [и др.]. – Минск : Право и экономика, 2010. – Т. 11. – С. 111–119.
3. Effective transfer of chromosomes carrying leaf rust resistance genes from *Aegilops tauschii* Coss. into hexaploid triticales (*X Triticosecale* Witt.) using *Ae. tauschii* × *Secale cereale* amphiploid forms / M. Kwiatek [et al.] // J. Appl. Genet. – 2015. – Vol. 56, N 2. – P. 163–168.
4. The effect of introgressions of wheat D-genome chromosomes into ‘Presto’ triticales / H. Budak [et al.] // Euphytica. – 2004. – Vol. 137, N 2. – P. 261–270.
5. Shlegel, R. Current list of wheats with rye and alien introgression [Электронный ресурс] / R. Shlegel. – Режим доступа: <http://www.desicca.de/Wheat-rye-introgression>. – Дата доступа: 17.06.2015.
6. Molecular cytogenetic characterization of a new wheat-rye 4R chromosome translocation line resistant to powdery mildew / D. An [et al.] // Chromosome Res. – 2013. – Vol. 21, N 4. – P. 419–432.
7. Molecular cytogenetic identification of a new wheat-rye 6R chromosome disomic addition line with powdery mildew resistance / D. An [et al.] // PLoS ONE. – 2015. – Vol. 10, N 8. – e0134534.
8. New wheat-rye 5DS-4RS4RL and 4RS-5DS 5DL translocation lines with powdery mildew resistance / S. Fu [et al.] // J. Plant Res. – 2014. – Vol. 127, N 6. – P. 743–753.
9. Crespo-Herrera, L. A systematic review of rye (*Secale cereale* L.) as a source of resistance to pathogens and pests in wheat (*Triticum aestivum* L.) / L. A. Crespo-Herrera, L. Garkava-Gustavsson, I. Ahman // Hereditas. – 2017. – Vol. 154, N 1. – DOI: 10.1186/s41065-017-0033-5
10. Идентификация генов короткостебельности *Rht2* и *Rht8* у образцов гексаплоидного тритикале с помощью ДНК маркеров / К. У. Куркиев [и др.] // Информ. вестн. ВОГиС. – 2008. – Т. 12, № 3. – С. 372–376.
11. Divashuk, M. G. The effect of selection for phenotypical characters on the chromosome constitution in spring triticales / M. G. Divashuk, A. A. Solov'ev, G. I. Karlov // Genetika. – 2010. – Vol. 46, N 3. – P. 383–388.
12. Бадаева, Е. Д. Изменение хромосом ржи в кариотипе тритикале : дис. ... канд. биол. наук : 03.00.15 / Е. Д. Бадаева. – М., 1984. – 181 л.
13. “Chromosomal passport” of *Triticum aestivum* L. *em* Thell. *cv.* Chinese Spring and standartization of chromosomal analysis of cereals / E. D. Badaeva [et al.] // Cereal Res. Commun. – 1990. – Vol. 18, N 4. – P. 273–281.
14. Distribution of the *Rht-B1b*, *Rht-D1* and *Rht8* reduced height genes in autumn-sown Chinese wheats detected by molecular markers / X. Zhang [et al.] // Euphytica. – 2006. – Vol. 152, N 1. – P. 109–116.
15. Tenhola-Roininen, T. Tagging the dwarfing gene *Ddw1* in a rye population derived from doubled haploid parents / T. Tenhola-Roininen, P. Tanhuanpaa // Euphytica. – 2010. – Vol. 172, N 3. – P. 303–312.
16. Получение пшенично-ржаных замещенных линий на основе озимых сортов ржи с идентификацией кариотипов методами С-бэндинга, GISH и SSR-маркеров / О. Г. Силкова [и др.] // Генетика. – 2007. – Т. 43, № 8. – С. 1149–1152.
17. Catalogue of gene symbols for wheat: 2013–2014 supplement [Electronic resources] / R. A. McIntosh [et al.]. – Mode of access: http://maswheat.ucdavis.edu/CGSW/2013-2014_Supplement.pdf. – Date of access: 11.09.2017.
18. The relationships between the dwarfing genes of wheat and rye / A. Borner [et al.] // Euphytica. – 1996. – Vol. 89, N 1. – P. 69–75.

19. Stojalowski, S. Phenotypic effect and chromosomal localization of *Ddw3*, the dominant dwarfing gene in rye (*Secale cereale* L.) / S. Stojalowski, B. Myskow, M. Hanek // *Euphytica*. – 2014. – DOI: 10.1007/s10681-014-1173-6 (online version)
20. Kobyljanski, V. D. Effect of the dominant character of short straw / V. D. Kobyljanski // *Hodowla Rosl Aklim Nasienn*. – 1975. – Vol. 19, N 5/6. – P. 495–501.
21. Кобылянский, В. Д. Новые селекционные признаки озимой ржи / В. Д. Кобылянский // Генетические ресурсы культурных растений в XXI веке. Состояние, проблемы, перспективы : тез. докл. II Вавилов. междунар. конф., Санкт-Петербург, 26–30 ноября 2007 г. – СПб. : ВИР, 2007. – С. 476–477.
22. ‘Green revolution’ genes encode mutant gibberellin response modulators / J. R. Peng [et al.] // *Nature*. – 1999. – Vol. 400. – P. 256–261.
23. Molecular characterization of *Rht1* dwarfing genes in hexaploid wheat / S. Pearce [et al.] // *Plant Physiol*. – 2011. – Vol. 157, N 4. – P. 1820–1831.
24. Isolation of a gibberellin-insensitive dwarfing gene, *Rht-B1e*, and development of an allele-specific PCR marker / A. Li [et al.] // *Mol. Breeding*. – 2012. – Vol. 30, N 3. – P. 1443–1451.
25. Optimizing wheat grain yield effects of *Rht* (gibberellin-insensitive) dwarfing genes / E. Flintham [et al.] // *J. of Agric. Sci.* – 1997. – Vol. 128, N 1. – P. 11–25.
26. Hoogendoorn, J. Differences in leaf and stem anatomy related to plant height of tall and dwarf wheat (*Triticum aestivum* L.) / J. Hoogendoorn, J. M. Rickson, M. D. Gale // *J. Plant Physiol*. – 1990. – Vol. 136, N 1. – P. 72–77.
27. Korzun, V. RFLP mapping of the dwarfing (*Ddw1*) and hairy peduncle (*Hp*) genes on chromosome 5 of rye (*Secale cereale* L.) / V. Korzun, G. Melz, A. Borner // *Theor. Appl. Genet*. – 1996. – Vol. 92, N 8. – P. 1073–1077.

References

1. Dubovets N. I., Dymkova G. V., Solovej L. A., Shtyk T. I., Bormotov V. E. A study on spring hexaploid triticales with mixed wheat component of karyotype. *Proceedings of the 5th International Triticale Symposium*, Radzikow, Poland, June 30 – July 5, 2002; ed. : E. Arseniuk, IHAR, 2002, vol. 2, pp. 303–310.
2. Dubovets N. I., Sycheva Y. A., Solovey L. A., Shtyk T. I., Bondarevich Y. B., Adonina I. G., Salina Y. A., Kabashnikova L. F., Savchenko G. Y., Abramchik L. M. Creation of a collection of chromosome-substitution lines of hexaploid triticales and its use in breeding and cytogenetic studies. *Molekulyarnaya i prikladnaya genetika: sb. nauch. tr.* [Molecular and applied genetics: collection of scientific papers] ; Institut genetiki i tsitologii NAN Belarusi; redkol. : A. V. Kil’chevskii (gl. red.) [i dr.]. Minsk, Pravo i ekonomika, 2010, vol. 11, pp. 111–119 (in Russian).
3. Kwiatek M., Majka M., Wiśniewska H., Apolinarska B., Belter J. Effective transfer of chromosomes carrying leaf rust resistance genes from *Aegilops tauschii* Coss. into hexaploid triticales (*X Triticosecale* Witt.) using *Ae. tauschii* × *Secale cereale* amphiploid forms. *Journal of Applied Genetics*, 2015, vol. 56, no. 2, pp. 163–168. DOI: 10.1007/s13353-014-0264-3
4. Budak H., Baenziger P. S., Beecher B. S., Graybosch R. A., Campbell B. T., Shipman M. J., Erayman M., Eskridge K. M. The effect of introgressions of wheat D-genome chromosomes into ‘Presto’ triticales. *Euphytica*, 2004, vol. 137, no. 2, pp. 261–270. DOI: <https://doi.org/10.1023/B:EUPH.0000041590.55511.d0>
5. Shlegel R. Current list of wheats with rye and alien introgression. Available at: <http://www.desicca.de/Wheat-rye-introgression> (accessed 17.06.2015).
6. An D., Zheng Q., Zhou Y., Ma P., Lv Z., Li L., Li B., Luo Q., Xu H., Xu Y. Molecular cytogenetic characterization of a new wheat-rye 4R chromosome translocation line resistant to powdery mildew. *Chromosome Research*, 2013, vol. 21, no. 4, pp. 419–432. DOI: 10.1007/s10577-013-9366-8
7. An D., Zheng Q., Luo Q., Ma P., Zhang H., Li L., Han F., Xu H., Xu Y., Zhang X., Zhou Y. Molecular cytogenetic identification of a new wheat-rye 6R chromosome disomic addition line with powdery mildew resistance. *PLoS ONE*, 2015, vol. 10, no. 8, e0134534. DOI: 10.1371/journal.pone.0134534
8. Fu S., Ren Z., Chen X., Yan B., Tan F., Fu T., Tang Z. New wheat-rye 5DS-4RS4RL and 4RS-5DS 5DL translocation lines with powdery mildew resistance. *Journal of Plant Research*, 2014, vol. 127, no. 6, pp. 743–753. DOI: 10.1007/s10265-014-0659-6
9. Crespo-Herrera L. A., Garkava-Gustavsson L., Ahman I. A systematic review of rye (*Secale cereale* L.) as a source of resistance to pathogens and pests in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Hereditas*, 2017, vol. 154, no. 1. DOI: 10.1186/s41065-017-0033-5
10. Kurkiyev K. U., Tyryshkin L. G., Kolesova M. A., Kurkiyev U. K. Identification of the semi-dwarf genes *Rht2* and *Rht8* in hexaploid triticales using DNA markers. *Informatsionnyi vestnik VOGiS* [Information bulletin of VOGiS], 2008, vol. 12, no. 3, pp. 372–376 (in Russian).
11. Divashuk M. G., Solov’ev A. A., G. I. Karlov. The effect of selection for phenotypical characters on the chromosome constitution in spring triticales. *Genetika*, 2010, vol. 46, no. 3, pp. 383–388. DOI: 10.1134/S1022795410030117
12. Badaeva E. D. *Changing the chromosomes of rye in a karyotype of triticales*. Abstract of Ph. D. diss. Moscow, 1984. 181 p. (in Russian).
13. Badaeva E. D., Sozinova L. F., Badaev N. S., Muravenko O. V., Zelenin A. V. “Chromosomal passport” of *Triticum aestivum* L. em Thell. cv. *Chinese Spring* and standartization of chromosomal analysis of cereals. *Cereal Research Communications*, 1990, vol. 18, no. 4, pp. 273–281.
14. Zhang X., Yang S., Zhou Y., He Z., Xia X. Distribution of the *Rht-B1b*, *Rht-D1* and *Rht8* reduced height genes in autumn-sown Chinese wheats detected by molecular markers. *Euphytica*, 2006, vol. 152, no. 1, pp. 109–116. DOI: 10.1007/s10681-006-9184-6

15. Tenhola-Roininen T., Tanhuanpaa P. Tagging the dwarfing gene *Ddw1* in a rye population derived from doubled haploid parents. *Euphytica*, 2010, vol. 172, no. 3, pp. 303–312. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10681-009-9982-8>
16. Silkova O. G., Dobrovolskaya O. B., Dubovets N. I., Adonina I. G., Kravtsova L. A., Shchapova A. I., Shumnyy V. K. Production of wheat-rye substituted lines based on winter rye varieties with identification of karyotypes using C-banding, GISH and SSR-markers. *Russian Journal of Genetics*, 2007, vol. 43, no. 8, pp. 957–960. DOI: <https://doi.org/10.1134/S1022795407080200>
17. McIntosh R. A., Dubcovsky J., Rogers W. J., Morris C., Appels R., Xia X. C. Catalogue of gene symbols for wheat: 2013–2014 supplement. Available at: http://maswheat.ucdavis.edu/CGSW/2013-2014_Supplement.pdf (accessed 11.09.2017).
18. Börner A., Plaschke J., Korzun V., Worland A. J. The relationships between the dwarfing genes of wheat and rye. *Euphytica*, 1996, vol. 89, no. 1, pp. 69–75. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00015721>
19. Stojalowski S., Myskow B., Hanek M. Phenotypic effect and chromosomal localization of *Ddw3*, the dominant dwarfing gene in rye (*Secale cereale* L.). *Euphytica*, 2014. DOI: 10.1007/s10681-014-1173-6 (online version)
20. Kobyljanski V. D. Effect of the dominant character of short straw. *Hodowla Rosl. Aklim. Nasienn.*, 1975, vol. 19, no. 5/6, pp. 495–501.
21. Kobyljanski V. D. New selection traits of winter rye. *Geneticheskiye resursy kul'turnykh rasteniy v XXI veke. Sostoyaniye, problemy, perspektivy. Tezisy dokladov II Vavilovskoi konferentsii* [Genetic resources of cultivated plants in the 21st century. Condition, problems, prospects. Abstracts of the II Vavilov International Conference]. Sankt-Peterburg, VIR, 2007, pp. 476–477 (in Russian).
22. Peng J., Richards D. E., Hartley N. M., Murphy G. P., Devos K. M., Flintam J. E., Beales J., Fish L. J., Worland A. J., Pelica F., Sudhakar D., Christou P., Snape J. W., Gale M. D., Harberd N. P. 'Green revolution' genes encode mutant gibberellin response modulators. *Nature*, 1999, vol. 400, pp. 256–261. DOI: 10.1038/22307
23. Pearce S., Saville R., Vaughan S. P., Chandler P. M., Wilhelm E. P., Sparks C. A., Al-Kaff N., Korolev A., Boulton M. I., Phillips A. L., Hedden P., Nicholson P., Thomas S. G. Molecular characterization of *Rht1* dwarfing genes in hexaploid wheat. *Plant Physiology*, 2011, vol. 157, no. 4, pp. 1820–1831. DOI:10.1104/pp.111.183657
24. Li A., Yang W., Guo X., Liu D., Sun J., Zhang A. Isolation of a gibberellin-insensitive dwarfing gene, *Rht-B1e*, and development of an allele-specific PCR marker. *Molecular Breeding*, 2012, vol. 30, no. 3, pp. 1443–1451. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11032-012-9730-y>
25. Flintam J. E., Börner A., Worland A. J., Gale M. D. Optimizing wheat grain yield effects of *Rht* (gibberellin-insensitive) dwarfing genes. *Journal of Agricultural Science*, 1997, vol. 128, no. 1, pp. 11–25.
26. Hoogendoorn J., Rickson J. M., Gale M. D. Differences in leaf and stem anatomy related to plant height of tall and dwarf wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Plant Physiology*, 1990, vol. 136, no. 1, pp. 72–77. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)81618-4](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81618-4)
27. Korzun V., Melz G., Börner A. RFLP mapping of the dwarfing (*Ddw1*) and hairy peduncle (*Hp*) genes on chromosome 5 of rye (*Secale cereale* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 1996, vol. 92, no. 8, pp. 1073–1077. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00224051>

Информация об авторах

Дубовец Надежда Ивановна – член-корреспондент, д-р биол. наук, доцент, гл. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: N.I.Dubovets@igc.by.

Сычева Елена Анатольевна – канд. биол. наук, заместитель директора по научной работе. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: E.Sycheva@igc.by.

Дробот Надежда Игоревна – мл. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: N.Drobot@igc.by.

Бондаревич Елена Борисовна – науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: e.bondarevich@igc.by.

Соловей Лилия Алексеевна – науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: lili_solovei@mail.ru.

Силкова Ольга Геннадьевна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН (пр. Акад. Лаврентьева, 10, 630090, г. Новосибирск, Российская Федерация). E-mail: silkova@bionet.nsc.ru.

Information about the authors

Nadezhda I. Dubovets – Corresponding Member, D. Sc. (Biol.), Assistant Professor, Chief researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (Akademicheskaya Str., 27, 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: N.I.Dubovets@igc.by.

Elena A. Sycheva – Ph. D. (Biol.), Deputy Director for Research. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (Akademicheskaya Str., 27, 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: E.Sycheva@igc.by.

Nadezhda I. Drobot – Junior researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (Akademicheskaya Str., 27, 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: N.Drobot@igc.by.

Elena B. Bondarevich – Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (Akademicheskaya Str., 27, 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: e.bondarevich@igc.by.

Lilia A. Solovey – Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (Akademicheskaya Str., 27, 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: lili_solovei@mail.ru.

Olga G. Silkova – Ph. D. (Biol.), Leading researcher. Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of Russian Academy of Sciences (Lavrentyev Av., 10, 630090, Novosibirsk, Russian Federation). E-mail: silkova@bionet.nsc.ru.