

ВЕСЦІ НАЦЫЯНАЛЬНАЙ АКАДЭМІІ НАВУК БЕЛАРУСІ № 3 2016
СЕРЫЯ АГРАРНЫХ НАВУК

УДК 633.112.9:[631.527:631.523]

О. И. ЗАЙЦЕВА¹, В. И. САКОВИЧ¹, В. Н. БУШТЕВИЧ², С. И. ГРИБ², В. А. ЛЕМЕШ¹

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ АЛЛЕЛЬНОГО СОСТАВА
СЕЛЕКЦИОННО ЦЕННЫХ ГЕНОВ ОТДАЛЕННЫХ ГИБРИДОВ ТРИТИКАЛЕ**

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь, e-mail: o.zaitseva@igc.by

²Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию, Жодино, Беларусь,
e-mail: triticale@tut.by

У 65 индивидуальных растений отдаленных гибридов ярового тритикале с пшеницей четырех комбинаций скрещиваний поколений F₄–F₅ установлен аллельный состав генов запасных белков зерна (*Glu-1*), генов карликовости (*Rht*), а также генов, контролирующей реакцию на яровизацию (*Vrn*). Выявлено, что гены *Dx5* и *Dy10* локуса *Glu-D1* пшеницы совместно передаются отдаленным гибридам тритикале. Выделено 11 линий комбинации скрещивания Узор × Ростань, которые характеризуются оптимальным составом всех изученных селекционно ценных генов: *Glu-A1b Glu-B1b Glu-D1d* по локусу *Glu-1*, *Vrn-A1a Vrn-B1a* по локусу *Vrn-1* и *Rht-B1b* по локусу *Rht*.

Ключевые слова: тритикале, гибрид, линия, ген, локус, молекулярный маркер, запасные белки, карликовость, яровизация.

O. I. ZAITSEVA¹, V. I. SAKOVICH¹, V. N. BUSHTEVICH², S. I. GRIB², V. A. LEMESH¹

**MOLECULAR AND GENETIC ANALYSIS OF ALLELIC COMPOSITION OF PLANT BREEDING VALUABLE
GENES OF TRITICALE REMOTE HYBRIDS**

¹The Institute of Genetics and Cytology, Minsk, Belarus, e-mail: o.zaitseva@igc.by

²The Research and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Arable Farming, Zhodino, Belarus
e-mail: triticale@tut.by

It's established that 65 separate plants of remote hybrids of spring triticales with wheat of four crossings of generation F₄–F₅ have allelic composition of genes of grain proteins (*Glu-1*), dwarfing genes (*Rht*) and genes controlling vernalization reaction. It's determined that genes *Dx5* and *Dy10* of locus *Glu-D1* of wheat are transferred to remote hybrids of triticales. Identified are 11 lines of crossing Uzor × Rostan which are characterized by the optimal composition of all the studied plant breeding valuable genes: *Glu-A1b Glu-B1b Glu-D1d* on locus *Glu-1*, *Vrn-A1a Vrn-B1a* on locus *Vrn-1* and *Rht-B1b* on locus *Rht*.

Keywords: triticales, hybrid, line, gene, locus, molecular marker, reserve protein, dwarfness, vernalization.

Введение. Тритикале за период 1990–2015 гг. стало одной из основных зернофуражных культур Республики Беларусь. Посевные площади достигли и стабилизировались в последние годы на уровне 450–500 тыс. га. По этому показателю Беларусь занимает второе место в мире, уступая Польше, где возделывается более 1 млн га [1]. Обладая высоким потенциалом урожайности в сочетании с хорошей питательной ценностью, повышенной устойчивостью к болезням, меньшей требовательностью к почвенному плодородию, тритикале обеспечивает в республике 18–20 % валового сбора зерна. Зерно тритикале представляет ценность в качестве фуража, а также технического сырья для крахмального и спиртового производства. Несмотря на достигнутые успехи, тритикале, как и другие сельскохозяйственные культуры, требует совершенствования. Дальнейший прогресс в селекции тритикале предполагает ускоренное создание сортов целевого назначения, характеризующихся высоким качеством зерна и устойчивостью к абиотическим и биотическим факторам [1].

Особенностью селекционного процесса тритикале является относительно узкий генофонд данной искусственно созданной культуры. В связи с этим большое значение имеет отдаленная гибридизация, в частности, интрогрессия генетического материала D-генома пшеницы, так как многие хозяйственно ценные признаки кодируются генами, расположенными в данном геноме.

Для ускорения отбора генотипов с целевыми, интересующими исследователя генами оптимальным является использование молекулярных маркеров, так как такой подход позволяет значительно сократить объем анализируемого селекционного материала, элиминировать влияние внешней среды, упростить процесс отбора селекционно ценных форм [2].

Цель настоящей работы – молекулярно-генетический анализ отдаленных гибридов ярового тритикале по селекционно ценным генам пшеницы, таким как гены высоких хлебопекарных качеств (*Glu-1*), гены карликовости (*Rht*), а также гены, контролирующие реакцию на яровизацию (*Vrn*) для отбора селекционно ценных форм.

Материалы и методы исследования. Материалом для исследований служили 65 линий отдаленных гибридов гексаплоидного ярового тритикале и мягкой пшеницы поколений F_4-F_5 . В скрещивание вовлекались формы тритикале Лана, Лотас, Узор и пшеницы Рассвет, Ростань, Р-2, Р-19.

Выделение и очистку ДНК проводили из листьев по методике Дорохова и Клоке [3] с модификациями. Растительный материал растирали при помощи гомогенизатора TissueLyserII (Qiagen, Германия).

Для анализа полиморфизма использовали 17 пар праймеров к локусам *Glu-1*, *Vrn-1*, *Rht-B1*, *Rht-D1* [4–11].

Аmplификацию проводили в реакционной смеси объемом 25 мкл, содержащей 2,5 мкл ПЦР-буфера (75 мМ Трис-НСl, рН 8,3, 20 мМ $(NH_4)_2SO_4$, 0,1 % твин-20), 2 мМ $MgCl_2$, 200 мкМ каждого dNTP, 6 пМ каждого праймера, 1 ед. Таq-полимеразы и 100 нг геномной ДНК. ПЦР осуществляли в термоциклере MJminiGradientThermalCycler (Bio-Rad, США).

Продукты полимеразных цепных реакций разделяли методом электрофореза в 2%-ном агарозном геле в 1X TAE-буфере (40 мМ трис-НСl, рН 8,0, 10 мМ ЭДТА) и фотографировали в ультрафиолетовом свете с помощью системы для документирования гелей Quantum St4 (VilberLourmat, Франция). Для определения длины амплифицированных фрагментов использовали маркеры молекулярного веса 100 bp + 1.5 Kb (GeneRuler 100 bpPlus (ThermoScientific, Литва)).

Результаты и их обсуждение. Использование зерна тритикале на продукты питания по сравнению с другими зерновыми культурами остается ограниченным [1]. Хлебопекарные свойства зависят от характеристик белково-протеинозного и углеводно-амилазного комплексов муки [12]. Тесто из муки тритикале характеризуется высокой амилазной активностью и средней либо слабой клейковиной. Клейковинный полимер (глютен) образован в основном высокомолекулярными (НМВ – англ. *high molecular weight*) и низкомолекулярными (ЛМВ – англ. *low molecular weight*) субъединицами глютеина, а также мономерными белками глиадинами [7]. При этом показано, что НМВ-субъединицы глютеина на 47–60 % определяют качество клейковины пшеницы [12]. Данные субъединицы у пшеницы кодируются локусами *Glu-A1*, *Glu-B1* и *Glu-D1*, расположенными на длинных плечах хромосом первой гомеологичной группы [8]. Каждый локус включает два тесно сцепленных гена, кодирующих субъединицы различной молекулярной массы, которые относятся к *x*- и *y*-типам [8, 12].

Геном гексаплоидного тритикале включает только 4 гена НМВ глютеинов (по 2 гена в локусах *Glu-A1* и *Glu-B1*), поэтому синтезируется 1–3 субъединицы пшеничных глютеинов. В то же время известно, что чем больше НМВ субъединиц глютеинов синтезируется, тем лучше хлебопекарные качества [8]. В этой связи перспективным является создание замещенных линий тритикале, получаемых при гибридизации с пшеницей.

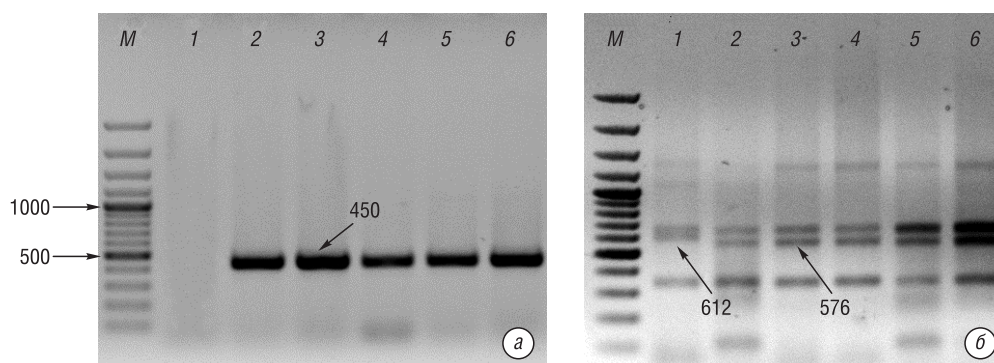
Для поиска ценных сочетаний генов запасных белков проведена оценка аллельного состава локусов *Glu-A1*, *Glu-B1* и *Glu-D1* у отдаленных гибридов тритикале (табл. 1).

Для идентификации генов *x*- и *y*-типа локуса *Glu-D1* использовали две пары праймеров (рисунк). Гены *x*- и *y*-типа локуса *Glu-D1* сцеплены (*Dx5 + Dy10*; *Dx2 + Dy12*), поэтому при исследовании генотипов пшеницы нет необходимости проводить анализ на присутствие аллелей *x*- и *y*-типа, достаточно использовать праймеры лишь к одному из них. Однако при изучении отдаленных гибридов тритикале и пшеницы для однозначного доказательства переноса генов с D-генома пшеницы нами анализировалось аллельное состояние обоих генов данного локуса.

Показано, что у 55 линий отдаленных гибридов из 65 изученных форм выявляется как ген *Dx5*, так и ген *Dy10*, следовательно, аллели локуса *Glu-D1* пшеницы совместно передаются отдаленным гибридам тритикале.

Т а б л и ц а 1. Аллельный состав генов запасных белков у отдаленных гибридов тритикале

Комбинация скрещивания	Количество линий	Поколение	Аллель локуса <i>Glu-A1</i>	Аллель локуса <i>Glu-B1</i>	Аллель локуса <i>Glu-D1</i>	Суммарная оценка качества кодируемого белка
Лотас × Р-2	1	F ₄	<i>Glu-A1c</i>	<i>Glu-B1c</i>	<i>Glu-D1d</i>	9
Лотас × Р-2	2	F ₄	<i>Glu-A1b/Glu-A1c</i>	<i>Glu-B1a/Glu-B1c</i>	<i>Glu-D1d</i>	10/7
Узор × Ростань	10	F ₄	<i>Glu-A1b</i>	<i>Glu-B1b</i>	<i>Glu-D1d</i>	10
Лана × Р-19	6	F ₅	<i>Glu-A1b</i>	<i>Glu-B1a</i>	<i>Glu-D1d</i>	8
Узор × Ростань	36	F ₅	<i>Glu-A1b</i>	<i>Glu-B1b</i>	<i>Glu-D1d</i>	10
Лотас × Рассвет	10	F ₅	<i>Glu-A1b</i>	<i>Glu-B1a</i>	–	4



Результаты амплификации ДНК растений гибридов с праймерами *Dx5* к гену *Dx5* (а), с праймерами *Dy10*: 12 к генам *Dy10* и *Dy12* (б): М – маркер молекулярного веса, 1 – сорт пшеницы Chinese Spring (контроль *Dx2* + *Dy12*), 2 – сорт пшеницы Ростань (контроль *Dx5* + *Dy10*), 3–6 – Узор × Ростань F₄ (*Dx5Dx5* + *Dy10*)

Также у отдаленных гибридов был проанализирован аллельный состав локусов *Glu-A1* и *Glu-B1*. При анализе частоты встречаемости аллелей локуса *Glu-A1* показано, что 62 линии содержали аллель *Glu-A1b*, одна – аллель *Glu-A1c*, аллель *Glu-A1a* не выявлен ни у одного из изученных генотипов. У двух линий гибридов комбинации Лотас × Р-2 наблюдалось одновременное присутствие аллелей *Glu-A1b* и *Glu-A1c*, что указывает на продолжающуюся стабилизацию геномов данных гибридов (см. табл. 1).

Р. I. Payne и G. J. Lawrence [13] на основании анализа глютеинов более 300 сортов пшеницы составили каталог и разработали классификацию для высокомолекулярных глютеинов, по которой отдельные субъединицы разделяются в соответствии с их влиянием на хлебопекарные качества. Каждой субъединице или совместно наследуемой комбинации субъединиц присваивается балл качества (от 1 до 4). Суммируя эти баллы, можно оценить вклад, вносимый НМВ-субъединицами глютеинов в качество хлеба. Так, субъединице 2*, кодируемой аллелем *Glu-A1b*, присваиваются максимальные для данного локуса 3 балла. Таким образом, большинство гибридов (95,4 %) содержат аллель, связанный с хорошими хлебопекарными качествами.

Поскольку в локусе *Glu-B1* экспрессируют, как правило, два гена (*x*- и *y*-типа) [9, 12], требуется определение аллелей для каждого из них. У всех проанализированных гибридов выявлен ген *Bx7*. По аллельному составу гена *y*-типа для исследованных форм показан полиморфизм: у 46 линий гибридов был выявлен ген *By8*, у одной – ген *By9*. У двух гибридов комбинации Лотас × Р-2 наблюдалось одновременное присутствие генов *By9* и *Bynull*. В целом у изученных гибридов по локусу *Glu-B1* выявлены аллели *Glu-B1a*, *Glu-B1b*, *Glu-B1c* и *Glu-B1a/Glu-B1c*. Наиболее часто встречался аллель *Glu-B1b*, кодирующий субъединицы (7 + 8) – он обнаружен у 70,8 % изученных форм. Частота встречаемости аллеля *Glu-B1a* (субъединица 7) составила 24,6 %, аллеля *Glu-B1c* (субъединицы 7 + 9) – 1,5 %, комбинации аллелей *Glu-B1a/Glu-B1c* (субъединицы 7/7 + 9) – 3,1 %. Пары субъединиц белков, кодируемых аллелями *Glu-B1a*, *Glu-B1b* и *Glu-B1c*, оцениваются в 1,

3 и 2 балла соответственно [13]. Таким образом, 46 из 65 изученных линий характеризуются наличием благоприятных для качества клейковины аллелей по локусу *Glu-B1*.

По результатам анализа отобранны 46 линий поколений F₄ и F₅ комбинации Узор × Ростань, характеризующиеся благоприятным сочетанием аллелей *Glu-A1b*, *Glu-B1b* и *Glu-D1d* кодирующих субъединицы, суммарно дающие 10 баллов, что является высокой оценкой НМW-субъединиц у пшеницы. Данные линии рекомендуется использовать в селекционном процессе тритикале при отборе на хлебопекарное качество.

Одним из важных хозяйственно ценных признаков является способность растений адаптироваться к различным условиям внешней среды. Определенную роль в адаптационной способности играют гены, контролирующие потребность в яровизации (воздействии на растения пониженными температурами для стимулирования цветения). По признаку потребности в яровизации многие злаковые культуры делятся на яровые, озимые и двуручки.

Для пшеницы установлены четыре локуса, контролирующие потребность в яровизации, – *Vrn-1*, *Vrn-2*, *Vrn-3* и *Vrn-4* [4, 14, 15]. *Vrn-1* гены кодируют MADS-боксы содержащие транскрипционные факторы, отвечающие за переход апикальных меристем побегов от вегетативной к генеративной стадии, и сходны с семейством генов *APETALA1* (*API*) арабидопсиса [14]. В геноме гексаплоидной пшеницы локус *Vrn-1* представлен генами *Vrn-A1*, *Vrn-B1* и *Vrn-D1*, расположенными на длинных плечах хромосом 5 гомеологичной группы [4, 14]. Ранее данные локусы носили название *Vrn1*, *Vrn2* и *Vrn3* [15]. Множественный аллелизм данных локусов является главным определяющим фактором типа развития гексаплоидной пшеницы [4–6].

Генетический контроль реакции на яровизацию ржи изучен значительно меньше. При помощи RFLP-маркирования подтверждено, что на хромосоме 5RL расположен ген *Spl* (*Vrn-R1*), гомеологичный генам *Vrn-1* пшеницы [16].

Различные комбинации аллелей локусов, связанных с реакцией на яровизацию, по-разному влияют на сроки колошения, высоту растений и структуру урожая у пшеницы [17]. В связи с этим проведен ПЦР-анализ отдаленных гибридов тритикале по генам *Vrn-1* (табл. 2).

Т а б л и ц а 2. Аллельный состав генов, контролирующих реакцию на яровизацию, у отдаленных гибридов ярового тритикале

Комбинация скрещивания	Количество линий	Поколение	Аллель гена <i>Vrn-A1</i>	Аллель гена <i>Vrn-B1</i>
Лотас × P-2	1	F ₄	<i>vrn-A1</i>	<i>Vrn-B1c</i>
Лотас × P-2	1	F ₄	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>
Лотас × P-2	1	F ₄	<i>Vrn-A1a</i>	<i>Vrn-B1c</i>
Узор × Ростань	8	F ₄	<i>Vrn-A1a</i>	<i>Vrn-B1a</i>
Узор × Ростань	1	F ₄	<i>Vrn-A1a</i>	<i>Vrn-B1a/vrn-B1</i>
Узор × Ростань	1	F ₄	<i>Vrn-A1a</i>	<i>vrn-B1</i>
Лана × P-19	1	F ₅	<i>Vrn-A1a</i>	<i>Vrn-B1a</i>
Лана × P-19	1	F ₅	<i>Vrn-A1a</i>	<i>Vrn-B1a/vrn-B1</i>
Лана × P-19	2	F ₅	<i>Vrn-A1a</i>	<i>Vrn-B1c</i>
Лана × P-19	1	F ₅	<i>Vrn-A1a</i>	<i>vrn-B1</i>
Лана × P-19	1	F ₅	<i>Vrn-A1a</i>	<i>Vrn-B1c/vrn-B1</i>
Узор × Ростань	13	F ₅	<i>Vrn-A1a</i>	<i>Vrn-B1a</i>
Узор × Ростань	7	F ₅	<i>Vrn-A1a</i>	<i>vrn-B1</i>
Узор × Ростань	4	F ₅	<i>Vrn-A1a</i>	<i>Vrn-B1a/Vrn-B1b</i>
Узор × Ростань	7	F ₅	<i>Vrn-A1a</i>	<i>Vrn-B1a/vrn-B1</i>
Узор × Ростань	3	F ₅	<i>Vrn-A1a</i>	<i>Vrn-B1b/vrn-B1</i>
Узор × Ростань	2	F ₅	<i>Vrn-A1a/vrn-A1</i>	<i>Vrn-B1b/vrn-B1</i>
Лотас × Рассвет	10	F ₅	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>

У изученных гибридов наблюдался более высокий уровень гетерозиготности по генам, контролирующим реакцию на яровизацию, по сравнению с генами запасных белков. По локусу *Vrn-A1* выявлено два аллеля: *Vrn-A1a* и *vrn-A1*. Аллель *Vrn-A1a* обнаружен у 51 линии, рецессивный аллель *vrn-A1* содержали 12 линий. Две линии комбинации Узор × Ростань были гетерозиготны по локусу *Vrn-A1* и одновременно содержали аллели *Vrn-A1a* и *vrn-A1*. По локусу *Vrn-B1* выявлены четыре аллеля (*Vrn-B1a*, *Vrn-B1b*, *Vrn-B1c* и *vrn-B1*). Аллель *vrn-B1* обнаружен у 20 линий отдаленных гибридов, аллель *Vrn-B1a* выявлен у 22 линий, аллель *Vrn-B1c* содержали четыре линии. Среди 65 изученных линий 19 были гетерозиготны по гену *Vrn-B1*: девять линий одновременно содержали аллели *Vrn-B1a* и *vrn-B1*; пять – аллели *Vrn-B1b* и *vrn-B1*; четыре – аллели *Vrn-B1a* и *Vrn-B1b*, одна линия гетерозиготна по аллелям *Vrn-B1c* и *vrn-B1*. Аллели локуса *Vrn-D1* у изученных гибридов выявлены не были.

Присутствие в генотипе гексаплоидной пшеницы доминантного аллеля в любом из локусов *Vrn-A1*, *Vrn-B1*, *Vrn-D1* определяет яровой тип развития, в то время как гомозиготное рецессивное состояние по всем вышеперечисленным локусам приводит к озимому типу развития [17, 18]. Доминантные аллели *Vrn-A1* обеспечивают полную нечувствительность к яровизации, при этом они взаимодействуют по типу эпистаза с локусами *Vrn-B1* и *Vrn-D1*. Генотипы, несущие доминантные аллели *Vrn-B1* и *Vrn-D1*, обладают некоторой чувствительностью к яровизации [4, 14]. По мнению А. Ф. Стельмаха [17], двуручки имеют один доминантный ген *Vrn-B1* и характеризуются чувствительностью к фотопериоду.

В наших исследованиях среди изученных форм были выявлены 10 линий отдаленных гибридов комбинации скрещивания Лотас × Рассвет ярового трипа развития с рецессивными аллелями (*vrn-A1* и *vrn-B1*) по генам, контролирующим реакцию на яровизацию. Можно предположить, что яровой тип развития данных гибридов обусловлен как влиянием локусов *Vrn-2* и *Vrn-3*, так и R-геномом ржи на процессы роста и созревания тритикале.

Гены *Vrn* по-разному влияют на длину вегетационного периода у яровой пшеницы. Генотипы, несущие доминантные аллели гена *Vrn-A1*, являются самыми раннеспелыми, доминантные аллели *Vrn-D1*, *Vrn-D4* и *Vrn-B1* обеспечивают более длительный вегетационный период, при этом генотипы с доминантными аллелями *Vrn-B1* являются наиболее позднеспелыми.

Кроме того, различные комбинации доминантных аллелей *Vrn* влияют на высоту растений и урожайность у пшеницы [17]. Присутствие двух доминантных аллелей главных локусов яровизации обеспечивает ранее созревание и высокую урожайность. Комбинация трех доминантных аллелей *Vrn-1* обеспечивает наиболее короткие сроки созревания, однако снижает урожайность [17, 18].

Среди изученных гибридов выделено 25 линий, характеризующихся оптимальным сочетанием аллелей генов, связанных с реакцией на яровизацию. Три линии с комбинацией аллелей *Vrn-A1a Vrn-B1c*, 22 формы с аллелями *Vrn-A1a Vrn-B1a*. Данные сочетания аллелей ассоциированы как с ранним созреванием, так и с высоким потенциалом зерновой продуктивности.

Использование генов короткостебельности (карликовости) для снижения высоты растений, увеличения урожая зерна, повышения устойчивости к полеганию явилось одной из главных предпосылок резкого увеличения индекса урожайности мягкой пшеницы во время «Зеленой революции» [19].

В настоящее время для пшеницы описано около 20 генов короткостебельности [20]. Они подразделяются на две группы: чувствительные и нечувствительные к действию гибберелловой кислоты. Гиббереллин-нечувствительные гены *Rht-B1* и *Rht-D1* локализованы в околоцентромерной области на коротких плечах гомеологичных хромосом – 4В и 4D соответственно. Для данных локусов установлен множественный аллелизм. Наиболее распространенными являются аллели *Rht-B1b* (*Rht1*) и *Rht-D1b* (*Rht2*) сорта Norin 10, которые уменьшают высоту растения на 15 % и увеличивают урожайность на 24 % [21]. Более 70 % современных сортов мягкой пшеницы содержат хотя бы один из данных аллелей, которые являются главными факторами, обусловившими «Зеленую революцию» [19]. Данные гены связаны с редукцией растяжения клеток, что ведет к уменьшению длины coleoptile, площади листа проростков и длины соломины стебля.

Гены *Rht-B1* и *Rht-D1* картированы и установлены их последовательности. Для идентификации аллелей данных генов разработаны аллель-специфические ПЦР-маркеры [11]. Изучаемые отдаленные гибриды проанализированы с помощью этих маркеров (табл. 3).

Т а б л и ц а 3. Аллельный состав генов короткостебельности отдаленных гибридов ярового тритикале

Комбинация скрещивания	Количество линий	Поколение	Аллель гена <i>Rht-B1</i>
Лотас × Р-2	3	F ₄	<i>Rht-B1b</i>
Узор × Ростань	4	F ₄	<i>Rht-B1b</i>
Узор × Ростань	2	F ₄	<i>Rht-B1a/Rht-B1b</i>
Узор × Ростань	4	F ₄	<i>Rht-B1a</i>
Лана × Р-19	1	F ₅	<i>Rht-B1b</i>
Лана × Р-19	5	F ₅	<i>Rht-B1b</i>
Узор × Ростань	21	F ₅	<i>Rht-B1b</i>
Узор × Ростань	6	F ₅	<i>Rht-B1a/Rht-B1b</i>
Узор × Ростань	9	F ₅	<i>Rht-B1a</i>
Лотас × Рассвет	10	F ₅	<i>Rht-B1b</i>

По результатам ПЦР-анализа аллельного состава гена *Rht-B1* показано, что 44 линии отдаленных гибридов содержали аллель *Rht-B1b*, для 13 линий установлено наличие аллеля *Rht-B1a*. Восемь линий характеризовались отсутствием гомозиготности и содержали одновременно аллели *Rht-B1b* и *Rht-B1a*. Аллель *Rht-D1b* не выявлен у изученных образцов. Таким образом, 44 линии отдаленных яровых гибридов характеризуются наличием ценного аллеля короткостебельности *Rht-B1b*, который связан с уменьшением высоты растений и увеличением урожайности, и могут быть использованы в селекционном процессе по данным признакам.

В целом при оценке по комплексу изученных генов отобрано 11 линий яровых гибридов комбинации скрещивания Узор × Ростань (три линии поколения F₄ и восемь линий поколения F₅), которые характеризуются оптимальным составом всех изученных селекционно ценных генов. Необходимо изучение особенностей наследования данных генов в следующих поколениях.

Заключение. При помощи ПЦР-анализа показано, что у 55 линий отдаленных гибридов ярового тритикале с пшеницей из 65 изученных в поколениях F₄ – F₅ выявляется как ген *Dx5*, так и ген *Dy10*, следовательно, сцепленные гены локуса *Glu-D1* пшеницы совместно передаются отдаленным гибридам тритикале.

По результатам ПЦР-анализа аллельного состава локусов *Vrn-1*, *Glu-1*, *Rh* выделено 11 линий яровых гибридов комбинации скрещивания Узор × Ростань (три линии поколения F₄ и восемь линий поколения F₅), которые характеризуются оптимальным составом всех изученных селекционно ценных генов: *Glu-A1b*, *Glu-B1b*, *Glu-D1d* по локусу *Glu-1*, *Vrn-A1a*, *Vrn-B1a* по локусу *Vrn-1* и *Rht-B1b* по локусу *Rht* и могут использоваться в селекции по комплексу исследованных признаков.

Список использованных источников

1. Гриб, С. И. Генофонд, методы и результаты селекции тритикале в Беларуси / С. И. Гриб // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. аграр. наук. – 2014. – № 3. – С. 40–45.
2. Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century / C. Bertrand [et al.] // Phil. Trans. R. Soc. B. – 2008. – Vol. 363. – P. 557–572.
3. Дорохов, Д. Б. Быстрая и экономичная технология RAPD анализа растительных геномов / Д. Б. Дорохов, Э. Клоке // Генетика. – 1997. – Т. 33, № 4. – С. 443–450.
4. Allelic variation at the *VRN-1* promoter region in polyploid wheat / L. Yan [et al.] // Theor. Appl. Genet. – 2004. – Vol. 109, N 8. – P. 1677–1686.
5. Large deletions within the first intron in *VRN-1* are associated with spring growth habit in barley and wheat / D. L. Fu [et al.] // Mol. Genet. Genom. – 2005. – Vol. 273, N 1. – P. 54–65.

6. A new multiplex PCR test for the determination of *Vrn-B1* alleles in bread wheat / Z. Milec [et al.] // Mol. Breeding. – 2012. – Vol. 30, N 1. – P. 317–323.
7. Multiplex-PCR typing of high molecular weight glutenin alleles in wheat / W. Ma [et al.] // Euphytica. – 2003. – Vol. 134. – P. 51–60.
8. Molecular marker-assisted selection of HMW glutenin alleles related to wheat bread quality by PCR-generated DNA markers / M. Ahmad // Theor. Appl. Genet. – 2000. – Vol. 101. – P. 892–896.
9. PCR analysis of *x*- and *y*-type genes present at the complex *Glu-A1* locus in durum and bread wheat / D. Lafiandra [et al.] // Theor. Appl. Genet. – 1997. – Vol. 94. – P. 235–240.
10. Y-type gene specific markers for enhanced discrimination of high-molecular weight glutenin alleles at the *Glu-B1* locus in hexaploid wheat / Z.S. Lei [et al.] // Journal of Cereal Science. – 2006. – Vol. 43. – P. 94–101.
11. “Perfect” markers for the *Rht-B1b* and *Rht-D1b* dwarfing genes in wheat / M. H. Ellis [et al.] // Theor. Appl. Genet. – 2002. – Vol. 105. – P. 1038–1042.
12. *Payne, P. I.* The relationship between HMW glutenin subunit composition and the bread-making quality of British-grown wheat varieties / P. I. Payne // J Sci. Food Agric. – 1987. – Vol. 40. – P. 51–65.
13. *Payne, P. I.* Catalogue of alleles for the complex gene loci, *Glu-A1*, *Glu-B1*, and *Glu-D1* which code for high-molecular-weight subunits of glutenin in hexaploid wheat / P. I. Payne, G. J. Lawrence // Cereal Res. Com. – 1983. – Vol. 11. – P. 29–35.
14. Positional cloning of the wheat vernalization gene *VRN1* / L. Yan [et al.] // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 2003. – Vol. 100, N 10. – P. 6263–6268.
15. *Pugsley, A. T.* A genetic analysis of spring-winter habit of growth in wheat / A. T. Pugsley // Aust. J. Agric. Res. – 1971. – Vol. 1, N 22. – P. 21–31.
16. RFLP mapping of genes affecting plant height and growth habit in rye / J. Plaschke [et al.] // Theor. Appl. Genet. – 1993. – Vol. 85, N 8. – P. 1049–1054.
17. *Stelmakh, A. F.* Growth habit in common wheat (*Triticumaestivum* L. em. Thell.) / A. F. Stelmakh // Euphytica. – 1987. – Vol. 36, N 2. – P. 513–519.
18. Adaptation and ecological differentiation in wheat with special reference to geographical variation of growth habit and *Vrn* genotype / K. Iwaki [et al.] // Plant Breeding. – 2001. – Vol. 120, N 2. – P. 107–114.
19. *Hedden, P.* The genes of the Green Revolution / P. Hedden // Trends Genet. – 2003. – Vol. 19. – P. 5–9.
20. Catalogue of Gene Symbols for Wheat: 2013–2014 supplement. In KOMUGI-Integrated Wheat Database / R. A. McIntosh [et al.]. [Electronic recourse]. – Mode of access: // <http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/macgene/supplement2013.pdf>. – Date of access: 22.02.2016.
21. Optimizing wheat grain yield: effects of *Rht* (gibberellin-insensitive) dwarfing genes / J. E. Flintham [et al.] // J. Agric Sc. – Vol. 128, N 1. – P. 11–25.

Поступила в редакцию 28.04.2016