

# Молекулярно-цитогенетический анализ линий тритикале и пшеницы с интрогрессиями генетического материала видов трибы Triticeae

О.А. Орловская<sup>1</sup>, И.Н. Леонова<sup>2</sup>, И.Г. Адонина<sup>2</sup>, Е.А. Салина<sup>2</sup>, Л.В. Хотылева<sup>1</sup>, В.К. Шумный<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Государственное научное учреждение «Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси», Минск, Беларусь

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия

В селекции культивируемых злаков существует ряд проблем, связанных с необходимостью создания форм, характеризующихся устойчивостью к болезням, вредителям и неблагоприятным условиям внешней среды. Расширение генетического разнообразия по генам устойчивости к биотическим и абиотическим стрессам достигается за счет использования генофонда диких и культурных сородичей мягкой пшеницы. Для улучшения злаков по ряду хозяйственно ценных признаков методом отдаленной гибридизации получены гибридные линии мягкой пшеницы *T. aestivum* / *T. durum* и *T. aestivum* / *T. dicoccoides*, а также линии тритикале от скрещивания сортов гексаплоидных тритикале с геномно-замещенными формами мягкой пшеницы, у которых геном D замещен на геномы диплоидных эгилопсов. Цель исследования состояла в том, чтобы с помощью цитологического и молекулярно-генетического анализов выделить линии мягкой пшеницы и гексаплоидных тритикале с чужеродными интрогрессиями и оценить их цитологическую стабильность. Использование для генотипирования линий тритикале сравнительного анализа структуры хромосом методами GISH и FISH, микросателлитных и хромосом-специфичных маркеров позволило установить, что в процессе гибридизации тритикале с геномно-замещенными формами мягкой пшеницы происходит реорганизация генома, включающая как интрогрессию чужеродного материала, так и перестройки хромосом мягкой пшеницы, приводящие к новым сочетаниям генетических локусов. Показана эффективность использования микросателлитных маркеров, разработанных на основе анализа генома мягкой пшеницы, для характеристики созданных в результате межвидовой гибридизации линий *T. aestivum* / *T. durum* и *T. aestivum* / *T. dicoccum*. В хромосомах геномов А и В исследованных гибридных линий обнаружено от 4 до 12 транслокаций различной протяженности от *T. durum*, *T. dicoccum*. У изученного гибридного материала тритикале и пшеницы выявлена мейотическая стабильность, что создает предпосылки для сохранения чужеродных интрогрессий в ряду последующих поколений.

Ключевые слова: мягкая пшеница (*Triticum aestivum* L.); тритикале (× *Triticosecale* Wittmack); тетраплоидные виды пшеницы *T. durum*; *T. dicoccum*; геномно-замещенные формы мягкой пшеницы Аврولاتа (AABB<sup>U</sup>U); Авродес (AABB<sup>S</sup>S) и Авротика (AABBM<sup>4</sup>M<sup>4</sup>); интрогрессивные линии пшеницы и тритикале; микроспорогенез; генотипирование.

## Molecular-cytogenetic analysis of triticale and wheat lines with introgressions of the tribe Triticeae species genetic material

O.A. Orlovskaya<sup>1</sup>, I.N. Leonova<sup>2</sup>, I.G. Adonina<sup>2</sup>, E.A. Salina<sup>2</sup>, L.V. Khotyleva<sup>1</sup>, V.K. Shumny<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Institute of Genetics and Cytology of NAS of Belarus, Minsk, Belarus

<sup>2</sup> Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

There are a number of problems in selection of cultivated cereals associated with the requirements to create forms with resistance to diseases, pests and unfavorable environmental conditions. The genetic diversity of genes for resistance to biotic and abiotic stresses can be increased by means of the gene pool of wild and cultivated wheat relatives. To improve agronomic traits in cereals, we have developed common wheat hybrid lines *T. aestivum* / *T. durum*, *T. aestivum* / *T. dicoccoides* and triticale lines by crossing hexaploid triticale with common wheat forms with the substitution of genome D for the genome of diploid *Aegilops* species. The aim of the study was to identify the lines of common wheat and hexaploid triticale with alien introgression using cytological and molecular-genetic analyses and evaluation of their cytological stability. Comparative analysis of the structure of chromosomes by GISH and FISH methods, microsatellite- and chromosome-specific markers revealed that hybridization of triticale with genome-substitution forms of wheat leads to the reorganization of the genome, including both the introgression of foreign material and wheat chromosome rearrangements, which lead to new combinations of genetic loci. The efficiency of wheat microsatellite markers to characterize of the *T. aestivum* / *T. durum*, *T. aestivum* / *T. dicoccum* interspecific hybrid lines was shown. From 4 to 12 translocations of different lengths from *T. durum* and *T. dicoccum* were identified in the chromosomes of A and B genomes in the hybrid lines. Meiotic stability of wheat and triticale hybrids was found. It creates

prerequisites for preservation of alien genetic material in subsequent generations.

Key words: common wheat (*Triticum aestivum* L.); triticale ( $\times$  *Triticosecale* Wittmack); tetraploid wheat species *T. durum*; *T. dicoccum*; genome-substitution forms of common wheat Avrolata (AABB<sup>U</sup>); Avrodes (AABB<sup>SS</sup>) and Avrotica (AABBM<sup>1</sup>M<sup>1</sup>); introgression wheat and triticale lines; microsporogenesis; genotyping.

#### КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ?

Орловская О.А., Леонова И.Н., Адонина И.Г., Салина Е.А., Хотылева Л.В., Шумный В.К. Молекулярно-цитогенетический анализ линий тритикале и пшеницы с интрогрессиями генетического материала видов трибы Triticeae. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2015;19(5):552-560. DOI 10.18699/VJ15.072

#### HOW TO CITE THIS ARTICLE?

Orlovskaya O.A., Leonova I.N., Adonina I.G., Salina E.A., Khotyleva L.V., Shumny V.K. Molecular-cytogenetic analysis of triticale and wheat lines with introgressions of the tribe Triticeae species genetic material. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii – Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2015;19(5):552-560. DOI 10.18699/VJ15.072

Интенсивная селекция, связанная с внутривидовой гибридизацией, привела к сужению генетического разнообразия культивируемых злаков и использованию в производстве относительно небольшого количества наиболее продуктивных генотипов. В связи с этим возникает потребность в расширении генетической базы культурных видов за счет привлечения новых источников зародышевой плазмы из видов, произрастающих в природных условиях. Так, многие дикорастущие злаки содержат гены, детерминирующие устойчивость к грибным патогенам, насекомым, засолению почвы, засухе и высокое качество зерна (Schneider et al., 2008; Nevo, 2011). Одним из экологически безопасных методов расширения генофонда зерновых и получения нового в генетическом отношении исходного материала является интрогрессивная гибридизация, конечная цель которой – привлечение в геном культурных злаков богатого арсенала чужеродных генов от родственных дикорастущих и культурных видов.

При использовании генного пула видов *Triticum* с целью улучшения пшеницы и создания потенциально новой изменчивости приоритет отдается использованию видов, которые имеют геномы, близкие геномам А, В и D мягкой пшеницы. Это облегчает интрогрессию целевых генов и локусов количественных признаков в геном мягкой пшеницы. В связи с этим в скрещиваниях с сортами мягкой пшеницы *T. aestivum* (AABBDD) были использованы тетраплоидные виды пшеницы *T. durum*, *T. dicoccum* и *T. dicoccoides* (AABB), которые характеризуются скороспелостью, устойчивостью к полеганию, нетребовательностью к условиям произрастания, засухоустойчивостью и высоким содержанием белка в зерне (до 24 %), а также обладают генами, определяющими устойчивость к возбудителям различных болезней (Xie, Nevo, 2008).

В ряде работ по улучшению генофонда тритикале показано, что наиболее перспективным методом введения чужеродной информации в геном этой культуры может оказаться использование форм пшеницы, несущих чужеродные хромосомы, их фрагменты или даже целые геномы дикорастущих видов пшеницы (Arseniuk et al., 1998; Sodkiewicz et al., 2008). Ранее нами был предложен и экспериментально проверен новый способ интрогрессии генетического материала *Aegilops* L. в геном гексаплоидных тритикале (Орловская и др., 2007). Впервые в качестве посредника при переносе чужеродного материала эгилопсов использовали геномно-замещенные формы

мягкой пшеницы сорта Аврора: Авролата (AABB<sup>U</sup>), Авродес (AABB<sup>SS</sup>) и Авротика (AABBM<sup>1</sup>M<sup>1</sup>), у которых геном D замещен на геномы *Ae. umbellulata*, *Ae. speltoides* и *Ae. mutica* соответственно (Жиров, 1990).

Образование рекомбинантного генома пшеницы и тритикале путем гибридизации с дикорастущими злаками и близкородственными видами сопровождается целым комплексом структурных и функциональных перестроек, большая часть которых приводит к формированию гибридов с нестабильным геномом и ослабленной фертильностью. Выявлять чужеродный хроматин в составе гибридного генома, исследовать особенности его сохранения и наследования в ряде поколений позволяют такие цитологические и молекулярно-генетические методы анализа, как геномная *in situ* гибридизация (GISH), флюоресцентная *in situ* гибридизация (FISH), микросателлитный анализ (SSR) и др. (Raina, Rani, 2001; Markova, Vyskot, 2009).

Целью работы было исследование характера интрогрессии чужеродного генетического материала у гибридных линий пшеницы и тритикале с использованием методов цитологического и молекулярно-генетического анализов.

#### Материалы и методы

Материалом для исследования служили 11 сестринских линий поколения F<sub>6-7</sub>, полученных от комбинаций скрещивания сортов мягкой пшеницы *T. aestivum* (Chinese Spring, Pitic S62, Белорусская 80) с образцами тетраплоидных видов *T. durum*, *T. dicoccum*; а также 10 линий, полученных при самоопылении гибридов от скрещивания озимых сортов гексаплоидных тритикале (Альмо, Идея, Модуль, Михась, НК-69) с геномно-замещенными формами мягкой пшеницы сорта Аврора: Авролата (AABB<sup>U</sup>), Авродес (AABB<sup>SS</sup>) и Авротика (AABBM<sup>1</sup>M<sup>1</sup>). Данные формы пшеницы были созданы Е.Г. Жировым (Краснодарский НИИСХ им. П.П. Лукьяненко) и любезно предоставлены нам для работы (Жиров, 1990). Гибридные линии тритикале и пшеницы получены в Институте генетики и цитологии НАН Беларуси и отобраны на основании изучения наследования морфологических признаков и продуктивности в поколениях F<sub>1</sub>–F<sub>4</sub> (Орловская и др., 2007, 2011).

Для генотипирования линий тритикале использовали сравнительный анализ структуры хромосом методами FISH и GISH. FISH с зондами на основе клонированных

повторенных последовательностей ДНК Spelt1, Spelt52 и pSc119.2 проводили в соответствии с ранее опубликованной методикой (Salina et al., 2006); GISH проводили согласно опубликованной методике (Schubert et al., 1998). В качестве пробы использовалась меченая геномная ДНК *S. cereale*, *Ae. umbellulata*, *Ae. mutica* в сочетании с 10–30-кратным избытком немеченой фрагментированной ДНК *T. aestivum*. Суммарную ДНК выделяли из листьев 5–7-дневных проростков либо из зерен по методу Плашке с коллегами (Plaschke et al., 1995). Для определения присутствия/отсутствия конкретных хромосом ржи у гибридных линий тритикале были использованы микросателлитные и хромосом-специфичные маркеры (Адонина и др., 2011).

Генотипирование линий *Triticum aestivum*/*Triticum durum* и *Triticum aestivum*/*Triticum dicoccum* осуществляли с помощью микросателлитных маркеров (WMC, GWM и GDM), специфичных для генома мягкой пшеницы (Somers et al., 2004; Ganal, Röder, 2007). Выделение ДНК, микросателлитный анализ, полимеразную цепную реакцию (ПЦР) и электрофорез фрагментов ПЦР проводили согласно ранее описанной процедуре (Леонова и др., 2005).

Микроспорогенез изучали на временных давленных препаратах. Для каждой комбинации скрещивания и исходной формы изучали по 30 материнских клеток пыльцы (МКП) метафазы I и по 50 МКП следующих стадий мейоза: анафазы I и II, метафазы II, тетрад. Анализировали по 3 растения каждого генотипа. Исследование препаратов проводили на микроскопе Ампливал (Карл Цейс, Йена) с объективом Апохромат 100× апертура 1,32 МИ. Статистический анализ данных по конъюгации хромосом в метафазе I проводили по стандартным методам с использованием модуля «описательная статистика» MS Excel 2007 (Microsoft, США). Количество хромосом, входящих в биваленты, рассчитывали как отношение числа хромосом, образующих биваленты, к общему числу хромосом, выраженное в процентах.

## Результаты и обсуждение

### Реорганизация геномного состава линий гексаплоидных тритикале при интрогрессии генетического материала от дикорастущих видов эгилопсов

Генотипирование линий тритикале было проведено методами цитологического и молекулярно-генетического анализа (табл. 1). GISH с ДНК *S. cereale* показала, что 8 из 10 линий несут по 14 хромосом ржи на диплоидный геном, транслокаций и рекомбинаций между пшеничными и ржаными хромосомами не обнаружено. В 2 из 7 линий, полученных от скрещивания тритикале с геномно-замещенной формой Аврولاتа (AABBVU): 19 НК-69 × Аврولاتа (рисунок, а, б) и 15 Идея × Аврولاتа, присутствовали 12 хромосом ржи и по одной паре хромосом *Ae. umbellulata*. Присутствие генетического материала *Ae. mutica* в линии 21-1 Идея × Авротика (AABVM<sup>1</sup>M<sup>1</sup>) методом GISH выявлено не было (Адонина и др., 2010).

Для определения характера замещения хромосом ржи на хромосомы *Ae. umbellulata* в линиях 15 и 19 был

проведен молекулярно-генетический анализ этих линий с использованием микросателлитных и хромосом-специфичных маркеров (Адонина и др., 2011). Установлено, что в линии 19 хромосома 1R ржи замещена на хромосому 1U *Ae. umbellulata*, в линии 15 обнаружено замещение хромосомы 2R на хромосому 2U.

Так как геном *S. Ae. speltoides* эволюционно очень близок геному В мягкой пшеницы, проведение GISH с ДНК данного вида на линиях тритикале является затруднительным. Поэтому для выявления генетического материала *Ae. speltoides* в линиях тритикале, полученных от скрещивания с геномно-замещенной формой Авродес (AABBSS), использовали метод FISH с зондами Spelt1 и pSc119.2. Субтеломерный повтор Spelt1 – специфичный маркер генома *Ae. speltoides*. Одновременная гибридизация с зондом pSc119.2 позволяет идентифицировать индивидуальные хромосомы пшеницы и эгилопса (Badaeva et al., 1996; Schneider et al., 2003). На основании данных FISH и после их сравнения с результатами, полученными для родительских форм, установлено, что линия 24-5 несет терминальную транслокацию от *Ae. speltoides* в коротком плече хромосомы 1В. В линии 29 выявлена транслокация от *Ae. speltoides* в длинном плече хромосомы 7В (рисунок, з).

Кроме этого, использование зонда pSc119.2 позволило выявить в четырех линиях, полученных от скрещивания с Аврولاتой, и в линии, полученной от скрещивания с Авротикой, перестройки хромосомы 1В (рисунок, в). У линии 28-3 Альмо × Авролата предположительно произошла делеция терминального блока повтора pSc119.2. Наблюдаемые нами изменения в распределении блоков повтора pSc119.2 на хромосоме 1В у линий 21-1, 12, 20 и 23-4 могут свидетельствовать о произошедших в процессе создания гибридных линий тритикале перестройках между хромосомами пшеницы. Так, например, Е. Бадаева с коллегами (Badaeva et al., 2007) выявили в сумме около 20 типов перестроек у разных образцов мягкой пшеницы и тритикале. Следует отметить, что наибольшее количество перестроек (у 7 из 10 изученных линий) нами было выявлено в первой гомеологической группе хромосом. Значительная частота перестроек, затрагивающих хромосомы первой гомеологической группы гексаплоидной пшеницы, отмечалась и в других работах: спонтанное замещение хромосомы 1В на хромосому 1R ржи (Friebe et al., 1996); транслокация 1RS·1BL, в настоящее время присутствующая во многих сортах мягкой пшеницы (Rabinovich, 1998); терминальные транслокации в коротком плече хромосомы 1В у линий *T. aestivum* с генетическим материалом *Ae. speltoides*. Высокая частота хромосомных замещений и транслокаций в первой гомеологической группе указывает на значительную близость хромосом видов, участвующих в скрещивании, определяющую их высокую компенсационную способность.

Таким образом, в процессе гибридизации гексаплоидных тритикале с геномно-замещенными формами мягкой пшеницы происходит реорганизация генома в целом, включающая как интрогрессию чужеродного материала, так и перестройки хромосом мягкой пшеницы, приводящие к новым сочетаниям генетических локусов.



### Анализ геномного состава гибридных линий мягкой пшеницы

Для определения локализации и протяженности фрагментов генетического материала *T. durum* и *T. dicoccum* в геноме гибридных линий мягкой пшеницы было использовано 140 микросателлитных маркеров, картированных на генетических картах хромосом мягкой пшеницы *T. aestivum* (Леонова и др., 2014). Для анализа хромосом геномов А и В использовано от 7 до 12 маркеров на хромосому. Хромосомы генома D были также проверены ограниченным количеством маркеров для выявления возможных перестроек. Анализ продуктов ПЦР маркеров, специфичных для мягкой пшеницы, показал, что в среднем более 87 % маркеров геномов А и В амплифицируют фрагменты у образцов тетраплоидных видов, использованных для создания линий. Маркеры, специфичные для хромосом генома D, показали отсутствие амплификации фрагментов у тетраплоидных пшениц *T. durum* и *T. dicoccum*.

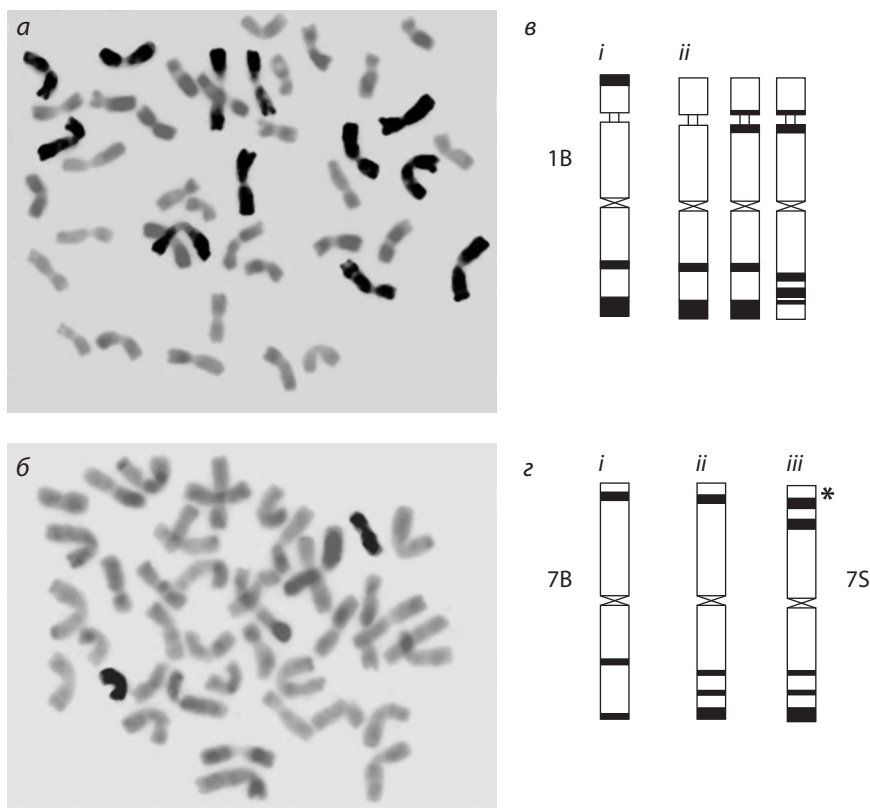
Из литературных данных известно, что SSR маркеры, разработанные на основе генома гексаплоидной пшеницы *T. aestivum*, активно используются для изучения других видов пшеницы и межвидовых гибридов (Kuleung et al., 2004; Leonova et al., 2009). Ряд микросателлитных маркеров был использован для построения и интеграции в молекулярно-генетические карты хромосом пшениц различной ploidy и других видов злаков (Adonina et al., 2005), в том числе карт хромосом *T. dicoccoides* и консенсусных карт *T. durum* (Peng et al., 2000). При этом степень эффективности данных маркеров для характеристики чужеродных генотипов и межвидовых гибридов достаточно высока независимо от уровня гомеологии хромосом.

Оценка полиморфизма SSR маркеров у родительских сортов (Chinese Spring, Pitic S62, Белорусская 80), использованных в данной работе при создании линий, в сравнении с тетраплоидными пшеницами *T. durum* и *T. dicoccum*, показывает, что большинство использованных маркеров (в среднем 75,3 и 87,5 % для геномов

**Таблица 1.** Результаты генотипирования линий, полученных от скрещивания тритикале с геномно-замещенными формами пшеницы Аврора

Линия (комбинация скрещивания)	Геномный состав (гаплоидный); хромосомные перестройки
23-4 (Идея × Аврората)	w14 + r7; 1B (рисунок, в)
15 (Идея × Аврората)	w14 + r6 + u1; 2R(2U)
19 (НК-69 × Аврората)	w14 + r6 + u1; 1R(1U)
28-3 (Альмо × Аврората)	w14 + r7; 1B (рисунок, в)
12 (Альмо × Аврората)	w14 + r7; 1B (рисунок, в)
20 (Михась × Аврората)	w14 + r7; 1B (рисунок, в)
27-2 (Модуль × Аврората)	w14 + r7
29 (Модуль × Авродес)	w14 + r7; T7BS/7SL (рисунок, з)
24-5 (Альмо × Авродес)	w14 + r7; T1S5/1BS·1BL
21-1 (Идея × Авротика)	w14 + r7; 1B (рисунок, в)

w – хромосомы *T. aestivum*; r – хромосомы *S. cereale*; u – хромосомы *Ae. umbellulata*.



Анализ линий тритикале с интрогрессиями от видов эгилопсов с помощью GISH и FISH.

а – линия 19 (НК-69 × Аврората) – GISH с ДНК *S. cereale*; б – линия 19 – GISH с ДНК *Ae. umbellulata*; в – идиограмма, демонстрирующая распределение пробы pSc119.2 на хромосоме 1B: i – *T. aestivum*; ii – линия 28-3 (Альмо × Аврората) – левый гомолог, линии 21-1 (Идея × Авротика), 12 (Альмо × Аврората), 20 (Михась × Аврората) – центральный гомолог, линия 23-4 (Идея × Аврората) – правый гомолог; з – идиограмма, демонстрирующая распределение пробы pSc119.2: i – на хромосоме 7B *T. aestivum*; ii – на хромосоме 7B с транслокацией T7BS/7SL у линии 29 (Модуль × Авродес); iii – на хромосоме 7S *Ae. speltoides*. Звездочкой обозначен сайт гибридизации с зондом Spelt1.

Рисунок из: (Adonina et al., 2011).

А и В соответственно) являются полиморфными, при этом порядка 70 % маркеров амплифицировали фрагменты в геноме тетраплоидных видов. Такой уровень полиморфизма позволяет не только выявлять участки интрогрессии чужеродного генома, но и оценивать их размеры. Однако отмечается разный уровень полиморфизма маркеров для отдельных хромосом. Так, например, все использованные в анализе маркеры, специфичные для хромосом 1В, 5В и 7В, были полиморфны независимо от родительского сорта мягкой пшеницы. Наиболее низкий уровень полиморфизма отмечен для маркеров, специфичных для хромосом 3А, 4А и 5А, и составляя в среднем 63 %.

Для определения хромосомной локализации и протяженности фрагментов генома *T. durum* и *T. dicoccum* было использовано от 5 до 11 полиморфных маркеров на каждую хромосому геномов А и В. Результаты генотипирования показали, что гибридные линии содержат от 4 до 12 фрагментов тетраплоидных пшениц (табл. 2). Для гибридных линий, полученных с участием *T. durum*, установлены различия по числу, хромосомной локализации и длине чужеродных фрагментов как внутри одной и той же комбинации скрещивания, так и между комбинациями, полученными на основе разных сортов мягкой пшеницы. Следует отметить значительные различия по числу и хромосомной локализации интрогрессированных фрагментов для линий прямой и обратной комбинаций скрещивания с участием сорта Chinese Spring и *T. durum*. Так, линии прямой комбинации скрещивания содержат 6 фрагментов генома *T. durum*, в то время как в обратной комбинации обнаруживается не менее 8. Кроме того, у линий прямой комбинации скрещивания не выявлено фрагментов чужеродного генома в хромосомах 1В, 5А, 7А и 6-й гомеологичной группы хромосом.

Можно отметить, что направление скрещивания оказывает влияние и на успех межвидовой гибридизации. Анализ полученных нами ранее результатов показал, что при скрещивании гексаплоидных и тетраплоидных пшениц оплодотворение протекает более успешно, когда опылителем является многохромосомный вид. Так, в комбинации, в которой в качестве материнского компонента скрещивания использовали *T. durum*, а в качестве отцовского – сорт пшеницы Chinese Spring, завязываемость составила 24,7 %, тогда как в обратной – только 1,4 %. Однако выполненность завязавшихся зерновок выше в комбинациях, в которых в роли опылителя выступали тетраплоидные виды: ни в одной такой комбинации скрещивания не выявлено зерновок без эндосперма (Khotyleva et al., 2010). В обратных же комбинациях зерновки были более морщинистые, с плохо выполненным эндоспермом, а у части из них эндосперм практически отсутствовал. Генотипирование гибридных линий *T. aestivum/T. durum* и *T. aestivum/T. dicoccum* выявило хромосомы с высокой и низкой частотой интрогрессии геномов тетраплоидных пшениц в хромосоме мягкой пшеницы. Так, более 80 % гибридных линий из комбинаций скрещивания с *T. durum* содержат фрагменты интрогрессий в хромосомах 1А, 2А, 3А, 3В, 5В и 7В.

Низкий уровень интрогрессии характерен для хромосом 4А и 4В, при этом у линий, полученных с участием

*T. dicoccum*, не выявлены фрагменты интрогрессии в хромосоме 4А.

Также следует отметить, что фрагменты генома тетраплоидных пшениц в хромосомах 5А и 7В обнаруживаются только в длинных плечах хромосом. Анализ локализации чужеродных фрагментов в сочетании с литературными данными о локализации генов устойчивости к грибным патогенам (McIntosh et al., 2013) позволяет предположить, что «целевые» локусы, определяющие устойчивость гибридных линий, локализованы в хромосомах, характеризующихся высокой частотой интрогрессий. Результаты молекулярного анализа свидетельствуют о том, что 4 гибридные линии (183/2-2 и 183/4-6 из комбинации CS/*T. durum* и 208-3 и 213-1 из комбинации Pitic S62/*T. dicoccum*) имеют высокое сходство как по хромосомной локализации фрагментов чужеродного генома, так и по протяженности этих фрагментов (табл. 2). Проведенное ранее кариотипирование этих линий методом С-бэндинга указывает на то, что они практически не отличаются друг от друга по рисункам окрашивания хромосом (Леонова и др., 2013).

Анализ протяженности фрагментов генома тетраплоидных пшениц не выявил закономерностей в длинах фрагментов в зависимости от сорта мягкой пшеницы, использованного для гибридизации. Также не отмечено существенных различий по числу и протяженности интрогрессированных фрагментов, характерных для хромосом геномов А и В. По-видимому, это связано с достаточно высокой степенью гомеологии хромосом А и В геномов мягкой пшеницы и видов, использованных в гибридизации, и их высокой рекомбинационной способностью.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют об эффективности использования микросателлитных маркеров, разработанных на основе генома мягкой пшеницы, для характеристики линий *T. aestivum/T. durum* и *T. aestivum/T. dicoccum*, созданных в результате межвидовой гибридизации. В геноме гибридных линий выявлено от 4 до 12 фрагментов *T. durum* и *T. dicoccum* различной протяженности в хромосомах А и В геномов.

#### Оценка цитологической стабильности гибридных линий тритикале и пшеницы

Главным фактором, ограничивающим практическое применение отдаленных гибридов, является их нестабильность, ведущая к быстрой потере чужеродного генетического материала. В основе этой нестабильности лежат нарушения мейотического цикла гибридных растений, вызывающие формирование нефункциональных гамет. Известно, что в геноме отдаленных гибридов и амфидиплоидов присутствуют системы генетического контроля мейоза разных родительских видов, которые не только действуют самостоятельно в гибридном геноме, но и взаимно влияют друг на друга (Naranjo et al., 1979; Lelley, Larter, 1980). В связи с этим нами проведен анализ поведения хромосом в мейозе у гибридных линий пшеницы и тритикале с целью оценки их цитологической стабильности.

Анализ стадии метафазы I выявил высокий уровень образования бивалентов как у гибридных линий пшеницы, так и тритикале (табл. 3). Количество хромосом, входящих

**Таблица 2.** Число интрогрессированных фрагментов *T. durum* и *T. dicoccum* и их хромосомная локализация в геноме гибридных линий мягкой пшеницы

Комбинация скрещивания	Линия	Хромосома/геном													
		1		2		3		4		5		6		7	
		A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
<i>Chinese Spring</i> × <i>T. durum</i>	183/2-2	L	-	+	-	L	S	-	-	-	L	-	-	-	L
	183/4-6	L	-	+	-	L	S	-	-	-	L	-	-	-	L
<i>T. durum</i> × <i>Chinese Spring</i>	190/4-1	+	+	+	L	L	+	-	-	L	L	L	S	L	L
	190/5-3	L	+	+	L	-	S	-	-	L	L	-	+	L	L
	190/6-1	+	-	+	L	S	S	-	-	L	L	-	+	L	L
	191/3-3	+	-	+	-	+	S	-	-	L	L	-	+	L	L
	195-3	L	+	+	+	+	+	-	-	L	+	L	+	+	L
	196-1	L	+	+	+	L	+	-	-	L	+	L	+	+	L
	200-3	L	+	S	-	L	L	-	-	L	L	-	-	-	L
	202-2	S	-	+	S	L	S	-	S	-	L	-	+	L	+
	202-2	S	-	+	S	L	S	-	S	-	L	-	+	L	+
<i>T. durum</i> × Белорусская 80	221-1	+	-	-	+	L	+	L	S	L	-	L	+	S	L
	226-7	S	S	L	-	+	+	L	-	-	L	+	+	-	-
Pitic 562 × <i>T. dicoccum</i>	206-2	+	+	-	+	L	S	-	S	L	L	L	+	+	-
	208-3	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	L	L
	213-1	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	L	L

L/S – наличие фрагментов генома *T. durum* или *T. dicoccum* в длинном/коротком плечах хромосомы; «+» – наличие фрагментов в обоих плечах хромосом; «-» – отсутствие фрагментов в обоих плечах хромосом.

в состав бивалентов, варьировало у линий пшеницы от 97,1 до 99,7 %, у тритикале – от 95,7 до 99,4 %. У всех проанализированных линий наблюдалось явное преобладание закрытых бивалентов над открытыми, что свидетельствует о высокой интенсивности процесса синапсиса гомологов. Наибольшим числом закрытых бивалентов характеризовались линия пшеницы 190/6-1 *T. durum* × *Chinese Spring* и линия тритикале 29 комбинации Модуль × Авродес (табл. 3).

Основным типом нарушений на этой стадии мейоза являлось наличие унивалентных хромосом. Среди материнских клеток пыльцы с унивалентами у подавляющего большинства гибридных линий самым многочисленным классом было сочетание 20П+2I. Максимальное число унивалентов, обнаруженное для исследованного материала, равно 4, чаще всего такие клетки встречались у линий пшеницы комбинации *T. durum* × *Chinese Spring* и линии тритикале 24-5 Альмо × Авродес. Таким образом, анализ характера поведения хромосом на стадии метафазы I мейоза линий пшеницы и тритикале с включением чужеродного генетического материала выявил высокую степень бивалентной конъюгации, что позволяет предположить незначительное количество нарушений на последующих стадиях мейоза.

Если исходить из положения, что образующиеся в метафазе I униваленты являются основной причиной аномалий на последующих стадиях мейоза, то на стадии анафазы I у данных гибридных линий следует ожидать незначительного количества нарушений. Одним из основных нарушений мейоза у исследованного материала

в анафазе I являлось отставание одной или нескольких хромосом от основных групп хромосом, разошедшихся к полюсам деления. В МКП с нарушениями количество отстающих хромосом варьировало от 1 до 5, причем максимальное количество унивалентов отмечено только у одной линии пшеницы, 196-1, комбинации *T. durum* × *Chinese Spring* и одной линии тритикале – 12 Альмо × Авролата. У большинства изученных линий самый многочисленный класс составили МКП с одной отстающей хромосомой. Кроме этого, основного, нарушения поведения хромосом на исследуемой стадии у всех линий пшеницы отмечены МКП с хромосомными мостами, количество которых варьировало от 5,0 до 22,0 %. Хроматидные мосты отмечены для 4 из 7 изученных линий тритикале. У растений гибридной комбинации Альмо × Авролата такого рода нарушения встречались чаще всего (6,5 %). Количество МКП без нарушений на стадии анафазы I для пшеницы было в интервале от 52,5 до 85,7 %, для тритикале – от 30 до 88,5 % (табл. 4). Оба мейотических деления следуют одно за другим достаточно быстро, и микроядра, образуемые отстающими в первом делении хромосомами, сохраняются в цитоплазме в течение второго деления. В этих же клетках имеют место отставание хромосом и образование из них микроядер в процессе второго деления, вследствие чего нарушения первого и второго делений суммируются. Основным нарушением в метафазе II, как и в метафазе I, является наличие унивалентных хромосом, не включенных в метафазные пластинки. Расхождение хромосом к полюсам во втором делении мейоза (анафаза II) сопровождалось отставанием отдельных

Таблица 3. Конъюгация хромосом в метафазе I гибридных линий мягкой пшеницы и тритикале

Гибридная комбинация	Линия	Среднее число на клетку			Униваленты	Количество хромосом, входящих в биваленты, %
		Биваленты закрытые	открытые	всего		
Линии пшеницы						
Рассвет × <i>T. dicoccoides</i> κ 5199	29	18,7 ± 0,3	1,9 ± 0,2	20,6 ± 0,1	0,7 ± 0,2	98,3
<i>T. dicoccoides</i> × Фестивальная	15-7	19,6 ± 0,2	1,2 ± 0,2	20,7 ± 0,1	0,5 ± 0,2	98,7
	16-5	19,0 ± 0,4	1,9 ± 0,4	20,9 ± 0,1	0,2 ± 0,2	99,5
Chinese Spring × <i>T. durum</i>	183/2-2	18,8 ± 0,3	1,9 ± 0,3	20,8 ± 0,1	0,4 ± 0,1	99,0
	184/1-6	18,9 ± 0,2	1,8 ± 0,2	20,8 ± 0,1	0,5 ± 0,2	98,9
	190/5-3	18,9 ± 0,2	1,9 ± 0,2	20,8 ± 0,1	0,5 ± 0,2	98,9
<i>T. durum</i> × Chinese Spring	190/6-1	19,9 ± 0,2	1,0 ± 0,2	20,9 ± 0,04	0,1 ± 0,1	99,7
	196-1	16,8 ± 0,3	3,6 ± 0,3	20,4 ± 0,1	1,1 ± 0,2	97,3
	200-3	19,3 ± 0,3	1,4 ± 0,2	20,7 ± 0,1	0,6 ± 0,2	98,7
<i>T. durum</i> × Белорусская 80	221-1	19,2 ± 0,3	1,6 ± 0,3	20,8 ± 0,1	0,5 ± 0,2	98,9
	226-7	18,1 ± 0,3	2,4 ± 0,3	20,5 ± 0,1	1,0 ± 0,2	97,6
	206-2	16,5 ± 0,3	3,9 ± 0,3	20,4 ± 0,1	1,1 ± 0,3	97,1
Pitic S 62 × <i>T. dicocum</i>	208-3	18,6 ± 0,2	2,1 ± 0,2	20,7 ± 0,1	0,5 ± 0,2	98,7
	213-1	18,1 ± 0,3	2,6 ± 0,3	20,8 ± 0,1	0,5 ± 0,2	98,9
Линии тритикале						
Альмо × Авролата	12	16,3 ± 0,3	4,1 ± 0,3	20,3 ± 0,1	1,3 ± 0,3	96,8
Альмо × Авродес	24-5	17,2 ± 0,2	3,2 ± 0,2	20,3 ± 0,2	1,3 ± 0,3	96,8
Модуль × Авролата	27-2	17,0 ± 0,2	3,7 ± 0,2	20,8 ± 0,1	0,4 ± 0,2	98,9
Модуль × Авродес	29	17,8 ± 0,2	3,1 ± 0,2	20,9 ± 0,8	0,3 ± 0,2	99,4
Михась × Авролата	20	17,1 ± 0,3	3,6 ± 0,3	20,6 ± 0,9	0,7 ± 0,2	98,3
Идея × Авротика	21-1	17,5 ± 0,3	3,1 ± 0,3	20,6 ± 0,1	0,8 ± 0,2	98,4
Идея × Авролата	23-4	17,2 ± 0,3	2,9 ± 0,3	20,1 ± 0,2	1,8 ± 0,3	95,7

хромосом, нарушением синхронности, образованием мостов. В целом число отставших хромосом в анафазе II осталось на уровне предыдущей стадии и варьировало у линий пшеницы от 1 до 4 (у тритикале данная стадия не анализировалась). Чаще всего встречались группы клеток с одной отставшей хромосомой. Количество МКП с хромосомными мостами изменялось от 1,7 до 12,0 %, причем у 4 линий данный тип нарушений не был выявлен. Как следствие этого, частота встречаемости МКП с мостами во втором делении значительно меньше, по сравнению с первым. У всего исследованного материала пшеницы обнаружены клетки с асинхронным делением. Максимальное число таких МКП характерно для линии 184/1-6 (20,7 %), минимальное – для линий 16-5 и 200-3 (1,7 %). Количество МКП без нарушений на стадии анафазы II было достаточно велико и варьировало от 55,0 до 80,0 % (табл. 4).

Стадия тетрад является заключительной, и количество МКП без нарушений на этой стадии (так называемый мейотический индекс) – важный показатель нормального течения всего мейоза. Для линий *T. aestivum* с интрогрессией генетического материала тетраплоидных пшениц

максимальный мейотический индекс (95 %) отмечен у линии 29 комбинации Рассвет × *T. dicoccoides* и линии 208-3 Pitic S62 × *T. dicocum*, в то время как самый низкий показатель принадлежит линии 206-2 комбинации Pitic S62 × *T. dicocum* (60,0 %) (табл. 4). Основным нарушением на данной стадии мейоза является наличие в тетрадах микроядер, количество которых варьировало в исследованном материале от 1 до 7, однако чаще всего образовывались тетрады с 1 и 2 микроядрами. Три линии, 15-7, 196-1, 206-2, имели МКП, содержащие от 5 до 7 микроядер, но частота встречаемости таковых была очень низкой и находилась на уровне 1,2–1,3 % от общего числа проанализированных клеток. Другим нарушением на стадии тетрад было наличие триад (1,2 %), которые наблюдались только у одной линии – 184/1-6.

Следует отметить, что линии с высоким показателем хромосомных ассоциаций на ранних стадиях мейоза, как правило, имели более высокое значение мейотического индекса. Изучение особенностей поведения хромосом в мейозе гибридных линий, полученных от скрещивания сортов *T. aestivum* с тетраплоидными видами пшениц, выявило небольшое количество аномальных клеток не



**Таблица 4.** Характеристика стадий мейоза гибридных линий мягкой пшеницы и тритикале

Гибридная комбинация	Линия	МКП без нарушений, %			Мейотический индекс, %
		Анафаза I	Метафаза II	Анафаза II	
<b>Линии пшеницы</b>					
Рассвет × <i>T. dicoccoides</i> к 5199	29	81,7	77,4	87,8	95,0
<i>T. dicoccoides</i> × Фестивальная	15-7	78,3	80,0	84,0	90,0
	16-5	80,0	72,0	91,6	91,0
Chinese Spring × <i>T. durum</i>	183/2-2	58,0	60,0	76,0	92,4
	184/1-6	70,0	67,2	69,1	87,5
<i>T. durum</i> × Chinese Spring	190/5-3	80,0	56,9	90,0	91,2
	190/6-1	76,0	68,8	84,0	93,3
	196-1	52,5	69,6	80,0	75,0
	200-3	74,0	62,5	78,3	88,7
<i>T. durum</i> × Белорусская 80	221-1	85,7	56,9	84,3	86,3
	226-7	70,6	55,6	77,3	98,7
Pitic S 62 × <i>T. dicocum</i>	206-2	57,5	38,9	56,8	60,0
	208-3	64,0	67,6	70,0	95,0
	213-1	72,0	65,5	58,0	87,5
<b>Линии тритикале</b>					
Альмо × Авролата	12	60,9	44,2	–	32,5
Альмо × Авродес	24-5	66,0	60,0	–	38,9
Модуль × Авролата	27-2	70,0	75,0	–	76,0
Модуль × Авродес	29	88,5	76,0	–	80,2
Михась × Авролата	20	80,0	74,0	–	68,8
Идея × Авротика	21-1	73,8	95,0	–	70,0
Идея × Авролата	23-4	30,0	46,0	–	44,0

только на стадии метафазы I, но и на заключительной стадии тетрад, которая является отражением нарушений в поведении хромосом на всех предшествующих стадиях.

Процент нормальных тетрад у изученного материала тритикале варьировал в более широких пределах и был несколько ниже, чем у линий пшеницы (табл. 4). Это не противоречит данным литературы, так как известно, что у тритикале, являющемся эволюционно молодым пшенично-ржаным амфиплоидом, цитологическая стабильность снижена (Ригин, Орлова, 1977). Максимальный мейотический индекс отмечен для линий 29 и 27-2 (80,2 и 76 % соответственно). Число микроядер в одной тетраде у данных линий не превышало 3, что говорит о стабилизации мейоза у этих образцов. Однако из 7 изученных линий для 3 (12, 24-5 и 23-4) выявлен невысокий процент нормальных тетрад (32,5–44 %). Количество микроядер в тетрадах данных линий достигало 7, однако чаще всего образовывались спорады с 1 или 2 микроядрами. Триады обнаружены только у линии 12 комбинации Альмо × Авролата. Полученные данные свидетельствуют о незавершенности процесса стабилизации мейоза у данного материала, в частности стадий, следующих за метафазой I. Поскольку спаривание хромосом в метафазе I и их поведение на последующих стадиях мейоза регулируются разными

генетическими системами, данный факт можно объяснить нарушением регуляции поведения хромосом на стадиях метафазы II – анафазы II, что приводит к увеличению аномальных МКП и низкому уровню нормальных тетрад.

Анализ характера поведения хромосом в метафазе I мейоза показал высокий уровень образования бивалентов у всех гибридных линий пшеницы  $F_{6-7}$  и тритикале  $F_{12}$ . Для большинства изученных линий выявлено незначительное количество аномальных клеток и на последующих стадиях мейоза, включая заключительную стадию тетрад.

Таким образом, использование молекулярно-цитологических и молекулярно-генетических подходов позволило выявить интрогрессию чужеродного генетического материала в геноме линий тритикале и пшеницы, созданных в результате отдаленной гибридизации. Выявленная мейотическая стабильность обеспечивает формирование у изученного гибридного материала полноценных гамет и тем самым создает предпосылки для сохранения чужеродных интрогрессий в ряду последующих поколений.

#### Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (гранты № Б14Р-013, № Б15СО-030); Российского



фонда фундаментальных исследований (грант № 14-04-90000, проект № 18 Совместных проектов фундаментальных исследований НАН Беларуси и СО РАН).

## Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## Список литературы

- Адонина И.Г., Орловская О.А., Терешенко О.Ю., Корень Л.В., Хотылева Л.В., Шумный В.К., Салина Е.А. Формирование хозяйственно ценных признаков у линий гексаплоидных тритикале с интрогрессиями от дикорастущих видов эгилопов в зависимости от геномного состава. *Генетика*. 2011;47(4):516-526.
- Жиров Е.Г. Геном пшеницы: исследование и перестройка. Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Киев, 1990.
- Леонова И.Н., Бадаева Е.Д., Орловская О.А., Рөдер М.С., Хотылева Л.В., Салина Е.А., Шумный В.К. Сравнительная характеристика гибридных линий *Triticum aestivum/Triticum durum* и *Triticum aestivum/Triticum dicoccum* по геномному составу и устойчивости к грибным болезням в различных экологических условиях. *Генетика*. 2013;49(11):1276-1283.
- Леонова И.Н., Добровольская О.Б., Каминская Л.Н., Адонина И.Г., Корень Л.В., Хотылева Л.В., Салина Е.А. Молекулярный анализ линий тритикале, содержащих различные системы *Vrn* генов, с помощью микросателлитных маркеров и гибридизации *in situ*. *Генетика*. 2005;41(9):1236-1243.
- Леонова И.Н., Салина Е.А., Орловская О.А., Хотылева Л.В., Шумный В.К. Использование SSR-маркеров для характеристики гибридных линий мягкой пшеницы с генетическим материалом *T. durum* и *T. dicoccum*. *Молекуляр. и прикл. генетика*. 2014;18: 61-69.
- Орловская О.А., Каминская Л.Н., Хотылева Л.В. Интрогрессия генетического материала эгилопа в геном гексаплоидных тритикале. *Генетика*. 2007;43(3):363-369.
- Орловская О.А., Корень Л.В., Хотылева Л.В. Морфологический анализ гибридов пшеницы, созданных посредством отдаленной гибридизации в трибе Triticeae. *Вестн. НАН Беларуси. Сер. биол. наук*. 2011;3:29-33.
- Ригин Б.В., Орлова И.Н. Пшенично-ржаные амфидиплоиды. Л.: Колос, 1977.
- Adonina I.G., Orlovskaya O.A., Tereshchenko O.Yu., Koren L.V., Khotyleva L.V., Salina E.A. Introgression of *Aegilops* genetic material into the genome of hexaploid triticale and influence of genome structure on formation of economic-valuable traits. *Plant genetics, genomics, and biotechnology: Proc. Intern. Conf. 7-10 June. Novosibirsk*, 2010.
- Adonina I.G., Orlovskaya O.A., Tereshchenko O.Yu., Koren L.V., Khotyleva L.V., Shumny V.K., Salina E.A. Development of commercially valuable traits in hexaploid *Triticale* lines with *Aegilops* introgressions as dependent on the genome composition. *Rus. J. Genet*. 2011;47(4):449-457. DOI: 10.1134/S1022795411040028
- Adonina I.G., Salina E.A., Pestsova E.G., Röder M.S. Transferability of wheat microsatellites to diploid *Aegilops* species and determination of chromosomal localizations of microsatellites in the S genome. *Genome*. 2005;48(6):959-970. DOI: 10.1139/g05-072
- Arseniuk E., Gruszecka D., Tarkowski Cz. Analysis of *Stagonospora nodorum* blotch resistance in hybrids of triticale, wheat, rye, *Aegilops* spp., *Agrotriticum* sp., and *Dasyopyrum* sp. *Proc. 4<sup>th</sup> Int. Triticale Symp. Alberta*, 26-31 July 1998;1:303-311.
- Badaeva E.D., Dedkova O.S., Gay G., Pukhalskiy V.A., Zelenin A.V., Bernard S., Bernard M. Chromosomal rearrangements in wheat: their types and distribution. *Genome*. 2007;50(10):907-926. DOI: 10.1139/G07-072
- Badaeva E.D., Friebe B., Gill B.S. Genome differentiation in *Aegilops*. 1. Distribution of highly repetitive DNA sequence on chromosomes of diploid species. *Genome*. 1996;39(2):293-306.
- Friebe B., Jiang J., Raupp W.J., McIntosh R.A., Gill B.S. Characterization of wheat-alien translocations conferring resistance to diseases and pests. *Euphytica*. 1996;91:59-87. DOI: 10.1007/BF00035277
- Ganal M.W., Röder M.S. Microsatellite and SNP markers in wheat breeding. *Genomics Assisted Crop Improvement*. Eds R.K. Varshney, R. Tuberosa. Springer, 2007;2:1-24.
- Khotyleva L., Koren L., Orlovskaya O. Use of *Triticeae* tribe species for expanding and enriching genetic resources of *Triticum aestivum*. *Proc. 8<sup>th</sup> Int. Wheat Conf. St. Petersburg*, 1-4 June 2010.
- Kuleung C., Baenziger P.S., Dweikat I. Transferability of SSR markers among wheat, rye, and triticale. *Theor. Appl. Genet*. 2004;108(6): 1147-1150. DOI: 10.1007/s00122-003-1532-5
- Lelley T., Larer E.N. Meiotic regulation in triticale: interaction of the rye genotype and specific wheat chromosomes on meiotic pairing in the hybrid. *Can. J. Genet. Cytol*. 1980;22(1):1-6.
- Leonova I.N., Röder M.S., Nasyrova F. The application of wheat microsatellite markers for the detection of interspecific variation in tetraploid *Aegilops* species with C and U genomes. *Cereal Res. Commun*. 2009;37(3):335-343. DOI: 10.1556/CRC.37.2009.3.2
- Markova M., Vyskot B. New horizons of genomic *in situ* hybridization. *Cytogenet. Genome Res*. 2009;126(4):368-375. DOI: 10.1159/000275796
- McIntosh R.A., Yamazaki Y., Dubcovsky J., Rogers J., Morris C., Appels R., Xia X.C. Catalogue of Gene Symbols for Wheat. 2013. Available at: <http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/>
- Naranjo T., Lacadena J.R., Giraldez R. Interaction between wheat and rye genomes on homologous and homoeologous pairing. *Z. Pflanzenzüchtung*. 1979;82(4):289-305.
- Nevo E. *Triticum*. *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources, Cereals*. Ed. C. Kole. Berlin/ Heidelberg: Springer-Verlag, 2011.
- Peng J., Korol A.B., Fahima T., Röder M.S., Ronin Y.I., Li Y.C., Nevo E. **Molecular genetic maps in wild emmer wheat, *Triticum dicoccoides***: genome-wide coverage, massive negative interference, and putative quasi-linkage. *Genome Res*. 2000;10(10):1509-1531. DOI: 10.1101/gr.150300
- Plaschke J., Ganal M.W., Röder M.S. Detection of genetic diversity in closely related bread wheat using microsatellite markers. *Theor. Appl. Genet*. 1995;91:1001-1007.
- Rabinovich S.V. Importance of wheat-rye translocations for breeding modern cultivars of *Triticum aestivum* L. *Euphytica*. 1998;100: 323-340.
- Raina S.N., Rani V. GISH technology in plant genome research. *Methods Cell Sci*. 2001;23(1-3):83-104. DOI: 10.1023/A:1013197705523
- Salina E.A., Lim Y.K., Badaeva E.D., Shcherban A.B., Adonina I.G., Amosova A.V., Samatadze T.E., Vatolina T.Yu., Zoshchuk S.A., Leitch A.R. **Phylogenetic reconstruction of *Aegilops* section Sitopsis and the evolution of tandem repeats in the diploids and derived wheat polyploids**. *Genome*. 2006;49(8):1023-1035. DOI: 10.1139/g06-050
- Schneider A., Linc G., Molnar-Lang M. Fluorescence *in situ* hybridization polymorphism using two repetitive DNA clones in different cultivars of wheat. *Plant Breed*. 2003;122(5):396-400. DOI: 10.1046/j.1439-0523.2003.00891.x
- Schneider A., Molnar I., Molnar-Lang M. Utilisation of *Aegilops* (goat-grass) species to widen the genetic diversity of cultivated wheat. *Euphytica*. 2008;163(1):1-19. DOI: 10.1007/s10681-007-9624-y
- Schubert I., Shi F., Fuchs J., Endo T.R. An efficient screening for terminal deletions and translocations of barley chromosomes added to common wheat. *Plant J*. 1998;14:489-495.
- Sodkiewicz W., Strzembicka A., Apolinarska B. Chromosomal location in triticale of leaf rust resistance genes introduced from *Triticum monococcum*. *Plant Breed*. 2008;127(4):364-367. DOI: 10.1111/j.1439-0523.2007.01485.x
- Somers D.J., Isaac P., Edwards K. A high-density microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet*. 2004;109(6):1105-1114. DOI: 10.1007/s00122-004-1740-7
- Xie W., Nevo E. Wild emmer: genetic resources, gene mapping and potential for wheat improvement. *Euphytica*. 2008;164(3):603-614. DOI: 10.1007/s10681-008-9703-8