



# Интрогрессии и хромосомные перестройки не влияют на активность глиадинкодирующих генов в линиях гибридов *Triticum aestivum* L. × *Aegilops columnaris* Zhuk.

А.Ю. Новосельская-Драгович , А.А. Янковская, Е.Д. Бадаева

Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, Россия

Вид дикорастущей пшеницы *Aegilops columnaris* Zhuk. представляет собой потенциальный источник новых генов, важных для улучшения хозяйственно ценных признаков пшеницы. До настоящего времени он не использовался в селекционных программах. В работе методами С-окрашивания хромосом и электрофореза запасных белков зерна мягкой пшеницы – глиадинов – проанализированы 17 линий *Triticum aestivum* L. × *Aegilops columnaris* Zhuk. с замещениями по хромосомам 1-й и 6-й гомеологических групп. Глиадин за счет высокого полиморфизма позволил идентифицировать чужеродный генетический материал. Для всех исследованных линий анализ электрофоретических спектров глиадина подтвердил замещение хромосом 6A, 6D или 1D мягкой пшеницы на гомеологические хромосомы эгилопса *Ae. columnaris* Zhuk., относящиеся к U<sup>c</sup> или X<sup>c</sup>-геномам. Замещение проявлялось в исчезновении продуктов экспрессии глиадинкодирующих генов на хромосомах 6A, 6D или 1D с одновременным появлением продуктов экспрессии генов, локализованных на чужеродных для пшеницы хромосомах U<sup>c</sup> или X<sup>c</sup>-геномов. Таким образом, показана функциональная активность эгилопсных хромосом в чужеродном для них пшеничном геноме. Отсутствие экспрессии чужеродных глиадинкодирующих генов у линий с делецией длинного плеча хромосомы 6X<sup>c</sup> позволило выдвинуть гипотезу о перемещении глиадинкодирующего локуса из короткого плеча (что характерно для всех известных видов пшеницы) в длинное. Перемещение глиадинкодирующего локуса, вероятно, связано с крупной видоспецифической перичентрической инверсией – цитогенетический анализ показал существенные различия ортоголичных хромосом 6-й группы X-генома по морфологии. В то же время хромосома 1D, независимо от потери части длинного плеча и объединения с негомологичной хромосомой другого генома (4BL), полноценно функционирует. Для эгилопса показан «блочный» характер наследования компонентов глиадина, что свидетельствует о сходстве организационной структуры глиадинкодирующих локусов у представителей этих родов. Определение генетического контроля разных полипептидов электрофоретического спектра эгилопса позволило разработать маркеры для идентификации хромосом 1X<sup>c</sup>, 6X<sup>c</sup> и 6U<sup>c</sup> *Ae. columnaris*.

Ключевые слова: электрофорез запасных белков; глиадины; дифференциальное окрашивание; замещения; транслокации; *Aegilops columnaris*; пшеница; интрогрессия.

## КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Новосельская-Драгович А.Ю., Янковская А.А., Бадаева Е.Д. Интрогрессии и хромосомные перестройки не влияют на активность глиадинкодирующих генов в линиях гибридов *Triticum aestivum* L. × *Aegilops columnaris* Zhuk. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018;22(5):507-514. DOI 10.18699/VJ18.388

## HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Novoselskaya-Dravovich A.Yu., Yankovskaya A.A., Badaeva E.D. Alien introgressions and chromosomal rearrangements do not affect the activity of gliadin-coding genes in hybrid lines of *Triticum aestivum* L. × *Aegilops columnaris* Zhuk. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektzii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2018;22(5):507-514. DOI 10.18699/VJ18.388

УДК 633.111.1:547.962.7


Поступила в редакцию 30.03.2018

Принята к публикации 30.05.2018

© АВТОРЫ, 2018

 e-mail: dragovich@vigg.ru

## Alien introgressions and chromosomal rearrangements do not affect the activity of gliadin-coding genes in hybrid lines of *Triticum aestivum* L. × *Aegilops columnaris* Zhuk.

A.Yu. Novoselskaya-Dravovich ,  
A.A. Yankovskaya, E.D. Badaeva

Vavilov Institute of General Genetics, RAS, Moscow, Russia

Using chromosome C-banding and electrophoresis of grain storage proteins, gliadins, 17 *Triticum aestivum*-*Aegilops columnaris* lines with substitutions of chromosomes of homoeologous groups 1 and 6 were examined. Based on their high polymorphism, gliadins were used to identify alien genetic material. For all of the lines examined, electrophoretic analysis of gliadin spectra confirmed substitution of wheat chromosomes 6A, 6D or 1D for the homoeologous *Aegilops* chromosomes of genomes U<sup>c</sup> or X<sup>c</sup>. The substitution manifested in the disappearance of the products of gliadin-coding genes on chromosomes 6A, 6D or 1D with the simultaneous appearance of the products of genes localized on alien chromosomes of genomes U<sup>c</sup> or X<sup>c</sup>. Thus, *Aegilops* chromosomes were shown to be functionally active in the alien wheat genome. The absence of alien genes expression in the lines carrying a long arm deletion in chromosome 6X<sup>c</sup> suggested that the gliadin-coding locus moved from the short chromosome arm (its characteristic position in all known wheat species) to the long one. This is probably associated with a large species-specific pericentric inversion. In spite of losing a part of its long arm and combination with a non-homologous chromosome of a different genome (4BL), chromosome 1D was fully functioning. For *Aegilops*, the block type of gliadin components inheritance was shown, indicating similarity in the structural organization of gliadin-coding loci in these genera. Based on determining genetic control of various polypeptides in the electrophoretic aegilops spectrum, markers to identify *Ae. columnaris* chromosomes 1X<sup>c</sup>, 6X<sup>c</sup> and 6U<sup>c</sup> were constructed.

Key words: electrophoresis of gliadin seed storage proteins; gliadins; C-banding; substitution; translocation; *Aegilops columnaris*; wheat; introgression.

Для улучшения мягкой пшеницы в селекционных программах в качестве доноров хозяйственно ценных признаков привлекают дикорастущие родственные виды, в частности представителей рода *Aegilops* L. Из разных видов этого рода в геном мягкой пшеницы было интродуцировано большое количество генов, особенно генов устойчивости к болезням, засухе и другим стрессовым факторам (Damania et al., 1992; Friebe et al., 1996; Monneveux et al., 2000; Schneider et al., 2008; McIntosh et al., 2013; Molnár-Láng et al., 2014, 2015). Кроме того, виды *Aegilops* могут быть использованы для улучшения качества зерна (Garg et al., 2008, 2016; Tiwari et al., 2010; Rawat et al., 2011; Rakszegi et al., 2017).

За последние десятилетия создан полный или почти полный ряд пшенично-эгилопсных дополненных или замещенных линий для более чем 10 видов эгилопсов (Schneider et al., 2008; Molnár-Láng et al., 2015). Однако вплоть до недавнего времени не удавалось получить линий пшеницы с интрогрессией от *Aegilops columnaris* Zhuk., тетраплоидного вида с геномной формулой  $U^cX^c$  (Dvořák, 1998; Badaeva et al., 2004). *Ae. columnaris* обладает рядом ценных для селекции признаков, в частности засухоустойчивостью и устойчивостью ко многим заболеваниям (Gill et al., 1985; Warham et al., 1986; Damania et al., 1992). Недавно коллективом лаборатории генетики и цитологии НИИ сельского хозяйства Юго-Востока (г. Саратов) был создан набор линий *T. aestivum* × *Ae. columnaris*. Ранее при анализе 84 линий методом дифференциального окрашивания хромосом нами установлено, что гибриды различаются по спектрам интрогрессии (Шишкина и др., 2017; Badaeva et al., 2018). Среди изученного материала присутствовали линии, содержащие замещения и/или дополнения по хромосомам 1-й и 6-й гомеологических групп.

Показано, что у злаков на коротких плечах хромосом 1-й и 6-й гомеологических групп локализованы гены, кодирующие запасные белки зерна – глиадины (Shepherd, 1968; Kasarda et al., 1976; Singh, Shepherd, 1988). Электрофоретические (ЭФ) спектры глиадинов представляют собой высокополиморфную систему, которая контролируется множественными аллелями шести несцепленных глиадинкодирующих (ГК) локусов: *Gli-A1*, *Gli-B1*, *Gli-D1*, *Gli-A2*, *Gli-B2*, *Gli-D2*. Каждый ГК локус представляет собой кластер тесно сцепленных генов, поэтому на электрофореграмме полипептиды, контролируемые этими кластерами, выглядят как блоки компонентов, которые наследуются как единый менделевский признак. Множественный аллелизм ГК локусов позволяет не только надежно идентифицировать сорта пшеницы, но и определять их внутреннюю структуру – состав биотипов/гаплотипов. Поэтому метод ЭФ анализа запасных белков зерна широко используется в генетических исследованиях пшеницы для паспортизации сортов, выявления структуры популяций, при исследовании биоразнообразия, картировании генов и решении многих других задач.

Генетика глиадинов изучена достаточно подробно, и для многих сортов российской и зарубежной селекции определены аллели ГК локусов (Novoselskaya-Dragovich, 2015). В то же время генетический контроль глиадинов у представителей рода *Aegilops*, в том числе *Ae. columnaris*, практически не исследован. В связи с этим анализ пше-

нично-*Ae. columnaris* линий с интрогрессией хромосом 1-й и 6-й групп позволит не только выделить аллели ГК локусов, контролируемые хромосомами эгилопса, но и разработать маркеры для идентификации генетического материала *Ae. columnaris*, а также оценить эффект интрогрессии разных хромосом эгилопса на экспрессию генов пшеницы.

Цель работы – уточнение структуры геномов интрогрессивных линий и анализ экспрессии чужеродных генов в геноме пшеницы методом ЭФ анализа запасных белков.

## Материал и методы

Для работы были отобраны 17 пшенично-*Ae. columnaris* интрогрессивных линий с замещением хромосом 1-й и 6-й гомеологических групп (см. таблицу). Материнскими формами послужили сорта пшеницы ( $2n = 42$ ) Добрыня и Л-503, содержащие пшенично-пырейную транслокацию T7DL-7Ai, а также сорт Саратовская 68 со стандартным набором пшеничных хромосом (Badaeva et al., 2018). Отцовским компонентом выступала линия К-1193 *Ae. columnaris* ( $2n = 28$ ).

Экстракцию глиадинов, электрофорез в полиакриламидном геле проводили согласно принятым методикам (Упелниек и др., 2013). Аллели глиадинкодирующих локусов классифицировали в соответствии с каталогом (Metakovsky, Novoselskaya, 1991).

Дифференциальное окрашивание хромосом (С-бэндинг) выполняли по методике (Badaeva et al., 1994). Хромосомы пшеницы классифицировали в соответствии с генетической номенклатурой (Gill et al., 1991), при классификации хромосом *Ae. columnaris* использовали номенклатуру, разработанную в нашей лаборатории (Badaeva et al., 2018).

## Результаты

Анализ ЭФ спектров глиадина позволил определить аллели ГК локусов у всех исследованных интрогрессивных линий и родительских сортов мягкой пшеницы. Показано, что из двух установленных ранее гаплотипов сортов Добрыня и Л-503 (Novoselskaya-Dragovich et al., 2003) гибриды унаследовали аллели только одного из них (см. таблицу). ЭФ спектры линий соответствуют спектрам родительских сортов. Например, линия 1794/1 унаследовала от сорта Саратовская 68 аллели *Gli-A1m* и *Gli-B2d*, а от сорта Добрыня – *Gli-B1e*, *Gli-D1a*, *Gli-A2s*. Только у линии 2304/1 выявлен аллель *Gli-A1f*, не характерный для родительского сорта пшеницы. Вероятно, он привнесен в нее в результате случайного переопыления. Все исследованные зерновки родительской линии *Ae. columnaris* К-1193 характеризуются одинаковыми электрофоретическими спектрами.

Линии 1721/1, 1776/1, 1777/4, 2307/1W, 2307/1w, 2308/5, 1777/1 (см. таблицу) получены из одной комбинации скрещивания (сорт Добрыня × К-1193). Их кариотипы характеризуются моносомным или дисомным замещением хромосомы 6A пшеницы на хромосомы  $6U^c$  или  $6X^c$  эгилопса (рис. 1, б, в). Согласно цитологическим данным, у линий 1721/1, 1776/1, 1777/4 и 2307/1w отсутствуют хромосомы 4В и 1D, вместо которых появляется пара крупных акроцентрических хромосом (см. рис. 1, б). По результатам С-бэндинга и гибридизации *in situ* с pSc119.2

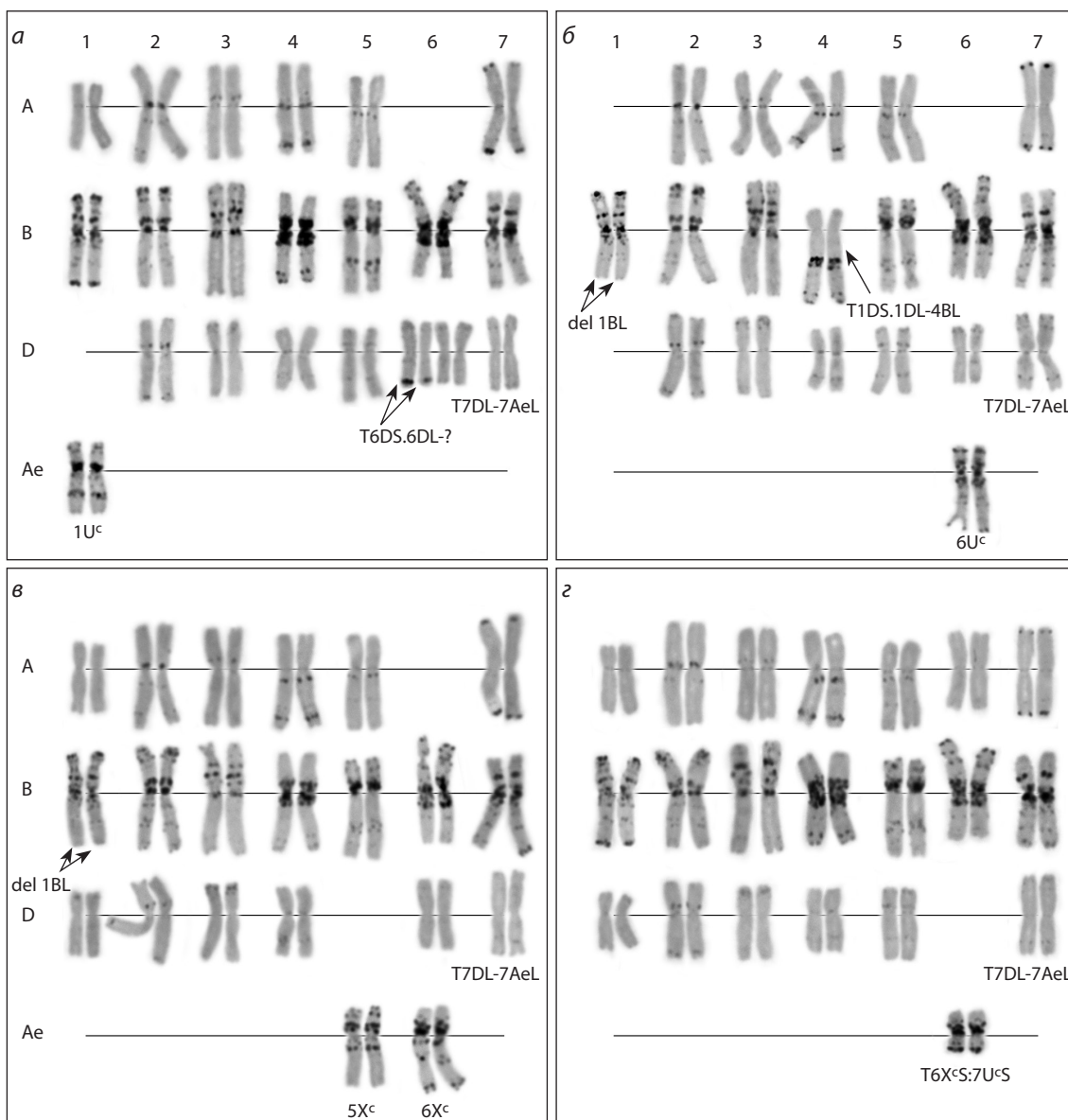
Цитологическая и генетическая характеристика пшенично-эгилопсных (*T. aestivum*–*Ae. columnaris*) интрогрессивных линий и родительских сортов пшеницы

№ п/п	Сорт/линия	2n	Цитологическая характеристика	Генетическая характеристика	Аллели глиадинкодирующих локусов <i>Gli</i> -						Биотип/ замещение хромосом
					A1	B1	D1	A2	B2	D2	
1	Добрыня	42	T7DL-7Ai	Сорт состоит из двух биотипов, <i>Gli-B2q/Gli-B2s</i>	<i>i</i>	<i>e</i>	<i>a</i>	<i>s</i>	<i>q</i>	<i>e</i>	1-й биотип
					<i>i</i>	<i>e</i>	<i>a</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>e</i>	2-й биотип
2	Л-503	42	T7DL-7Ai	Сорт состоит из двух биотипов, <i>Gli-A1i/Gli-A1m</i>	<i>i</i>	<i>e</i>	<i>a</i>	<i>q</i>	<i>qx</i>	<i>e</i>	1-й биотип
					<i>m</i>	<i>e</i>	<i>a</i>	<i>q</i>	<i>qx</i>	<i>e</i>	2-й биотип
3	Саратовская 68	42	–	Мономорфный сорт	<i>m</i>	<i>e</i>	<i>f</i>	<i>o</i>	<i>d</i>	<i>e</i>	
4	1721/1	40	Дисомное замещение 6A(6U <sup>c</sup> ). Терминальная делеция 1BL. 6A и 1D отсутствуют; дисомик T4BL-1D и T7DL-7Ai	1D функционирует; 6A отсутствует, экспрессируется 6U <sup>c</sup>	<i>i</i>	<i>e</i>	<i>a</i>	6U <sup>c</sup>	<i>s</i>	<i>e</i>	6A(6U <sup>c</sup> )
5	1776/1	40	То же	То же	<i>i</i>	<i>e</i>	<i>a</i>	6U <sup>c</sup>	<i>s</i>	<i>e</i>	6A(6U <sup>c</sup> )
6	1777/4	40	»	»	<i>i</i>	<i>e</i>	<i>a</i>	6U <sup>c</sup>	<i>s</i>	<i>e</i>	6A(6U <sup>c</sup> )
7	2307/1W	40	»	»	<i>i</i>	<i>e</i>	<i>a</i>	6U <sup>c</sup>	<i>s</i>	<i>e</i>	6A(6U <sup>c</sup> )
8	2307/1w	43	Дисомное дополнение 6U <sup>c</sup> ; 4B+1D/ T4BL-1D или 4B(T4B-1D). T7DL-7Ai	»	<i>i</i>	<i>e</i>	<i>a</i>	<i>s</i> +6U <sup>c</sup>	<i>s</i>	<i>e</i>	6A+6U <sup>c</sup>
9	2308/5	40	»	1D функционирует; 6A отсутствует, экспрессируется 6U <sup>c</sup> (в одной дозе)	<i>i</i>	<i>e</i>	<i>a</i>	6U <sup>c</sup>	<i>s</i>	<i>e</i>	6A(6U <sup>c</sup> )
10	1777/1	42	Двойное дисомное замещение 5D(5X <sup>c</sup> ) 6A(6X <sup>c</sup> ). Терминальная делеция 1BL; расщепляется по хр. 7B и 7D/ T7DL-7Ai	6A отсутствует, экспрессия есть 6U <sup>c</sup>	<i>m</i>	<i>e</i>	<i>a</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	6X <sup>c</sup>	6A(6X <sup>c</sup> )
11	1813	42	Дисомное замещение 6D (6U <sup>c</sup> ); T7DL-7Ai	6D – экспрессии нет, появляются компоненты 6U <sup>c</sup>	<i>i</i>	<i>e</i>	<i>a</i>	<i>q</i>	<i>s</i>	6U <sup>c</sup>	6D(6U <sup>c</sup> )
12	2054/3	42	То же	6D – экспрессии нет, появляются компоненты 6U <sup>c</sup>	<i>i</i>	<i>e</i>	<i>a</i>	<i>q</i>	<i>s</i>	6U <sup>c</sup>	6D(6U <sup>c</sup> )
13	2015/2	42	Моносомное замещение 6D/ 6U <sup>c</sup> . T7DL-7Ai	6D – экспрессии нет, экспрессируется 6U <sup>c</sup>	<i>i</i>	<i>e</i>	<i>a</i>	<i>q</i>	<i>q</i>	6U <sup>c</sup>	6D(6U <sup>c</sup> )
14	2306/3	42	То же	То же	<i>i</i>	<i>e</i>	<i>a</i>	<i>q</i>	<i>q</i> + <i>s</i>	6U <sup>c</sup>	6D(6U <sup>c</sup> )
15	2310/1	42	Моносомное замещение 6D/ 6U <sup>c</sup> , 1DL-терминальная транслокация. T7DL-7Ai	»	<i>i</i>	<i>e</i>	<i>a</i>	<i>q</i>	<i>q</i>	6U <sup>c</sup>	6D(6U <sup>c</sup> )
16	2304/1	42	Двойное дисомное замещение 5D(5X <sup>c</sup> ) 6B(6X <sup>c</sup> ). T7DL-7Ai	6D – экспрессии нет, экспрессируется 6X <sup>c</sup>	<i>f</i>	<i>e</i>	<i>a</i>	<i>q</i>	<i>q</i>	6X <sup>c</sup>	6D(6X <sup>c</sup> )
17	2033/1	40	Гибрид; расщепляется 6D/6Ai-2 + 5D/5X+?tel6X <sup>c</sup> S + 3DL с терминальной транслокацией, 6D отсутствует	То же	<i>i</i>	<i>e</i>	<i>a</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	–	–
18	2034/3-1	42	6D отсутствует. 6X <sup>c</sup> имеет крупную терминальную делецию в длинном плече	»	<i>m+i</i>	<i>e</i>	<i>a</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	6X <sup>c</sup>	6D(6X <sup>c</sup> ) (4:1)

**Окончание таблицы**

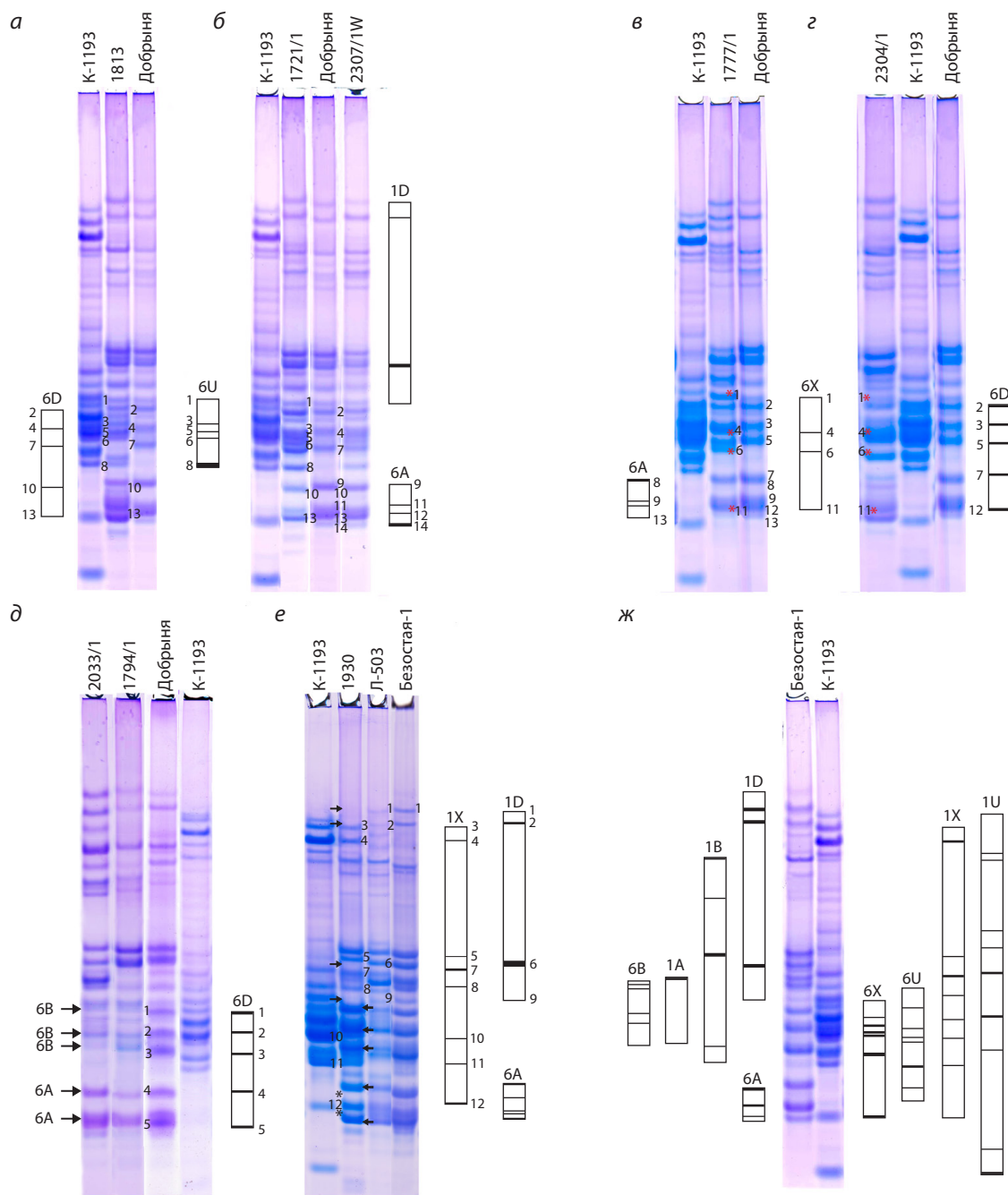
№ п/п	Сорт/линия	2n	Цитологическая характеристика	Генетическая характеристика	Аллели глиадинокодирующих локусов <i>Gli</i> -						Биотип/замещение хромосом
					A1	B1	D1	A2	B2	D2	
19	1930	42	Дисомное замещение 1D(1X <sup>c</sup> ). Нулли-6A, тетра-6D; одна пара 6D имеет терминальную транслокацию в длинном плече. T7DL-7Ai	1D и 6A – экспрессии нет, экспрессируется 1X <sup>c</sup> , тетра 6D	<i>i</i>	<i>e</i>	1X <sup>c</sup>	–	<i>q</i>	<i>e</i>	1D(1X <sup>c</sup> )
20	1794/1	42	6D замещена T7U <sup>c</sup> :6X <sup>c</sup> ; T7DL-7Ai	6D и 6X <sup>c</sup> – экспрессии нет	<i>m</i>	<i>e</i>	<i>a</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	–	–

Примечание. 2n – число хромосом. Глиадинокодирующие локусы *Gli-A1*, *Gli-B1*, *Gli-D1*, *Gli-A2*, *Gli-B2*, *Gli-D2* контролируются хромосомами 1A, 1B, 1D, 6A, 6B и 6D соответственно.



**Рис. 1.** Кариотипы интрогрессивных линий пшеница-*Ae. columnaris*, использованных в работе: а – 1930; б – 2308; в – 1771/1; з – 1794/1.

A, B, D – геномы мягкой пшеницы, Ae – геном эгилопса; 1–7 – гомеологические группы. Номера чужеродных хромосом приведены внизу рисунка. Стрелками обозначены хромосомные перестройки.



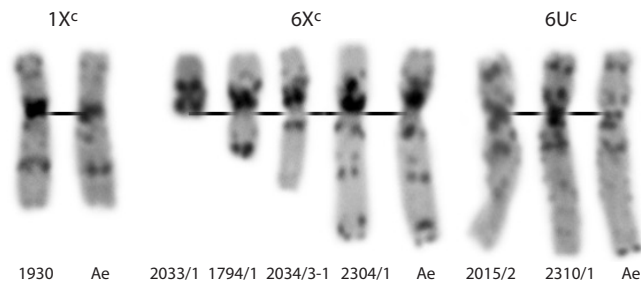
**Рис. 2.** Электрофоретические спектры глина интрогрессивных линий с перестройками хромосом 1-й и 6-й гомеологических групп.

K-1193 – родительская линия *Ae. columnaris*. Схемы – блоки компонентов глина, контролируемые хромосомами пшеницы и эгилопса. Цифры – отдельные компоненты, входящие в блоки. Линии с замещением: а – 6A(6U<sup>c</sup>); б – 6D(6U<sup>c</sup>); в – 6A(6X<sup>c</sup>); г – 6D(6X<sup>c</sup>); д – линия, у которой отсутствуют компоненты, кодируемые хромосомами 6D, 6U<sup>c</sup> и 6X<sup>c</sup>, стрелки указывают компоненты, кодируемые хромосомами 6A и 6B; е – 1D(1X<sup>c</sup>), нулли-6A тетра-6D, стрелки слева указывают на отсутствие компонентов 1D, стрелки справа указывают на компоненты с увеличенной интенсивностью окраски, кодируемые тетра 6D, звездочки – отсутствие компонентов, кодируемых 6A хромосомой; ж – генетический контроль полипептидов глина *Ae. columnaris*, схематически показаны блоки компонентов глина, контролируемые 1-й и 6-й гомеологическими группами хромосом эгилопса (справа) и пшеницы (слева).

и pAs1 ДНК-зондами, данная хромосома образовалась вследствие транслокации короткого и большей части длинного плеча 1D на длинное плечо 4B с точкой разрыва в перичентромерном районе 4B и дистальном участке 1DL (Badaeva et al., 2018).

Все четыре перечисленные линии имеют идентичные ЭФ спектры глина, кодируемые одинаковым набором

аллелей ГК локусов (см. таблицу). Компоненты глина, контролируемые хромосомой 6A, отсутствуют, но в спектре появляются полипептиды, ЭФ подвижность которых соответствует подвижности ряда компонентов эгилопса (рис. 2, б). Это подтверждает наличие замещения хромосомы 6A пшеницы на хромосому эгилопса и демонстрирует экспрессию его генов.



**Рис. 3.** Сравнение хромосом 1X<sup>c</sup>, 6U<sup>c</sup> и 6X<sup>c</sup> *Ae. columnaris*, выявленных в интрогрессивных линиях, с хромосомами родительского образца К-1193 (Ae).

Все полипептиды глиадина, контролируемые хромосомой 1D, выявлены в ЭФ спектрах всех четырех линий, следовательно, в транслоцированную часть хромосомы 1D входит и ГК локус. ГК гены на хромосомах 1A, 1B, 6B и 6D экспрессируются в полном объеме, как у родительского сорта пшеницы Добрыня (см. рис. 2, б).

В кариотипе линии 2307/1W, в отличие от остальных линий этой группы, идентифицировано дисомное дополнение хромосомы 6U<sup>c</sup>. В ее ЭФ спектре есть компоненты, кодируемые как 6A, так и 6U<sup>c</sup> хромосомой (см. рис. 2, б). Линии с замещением 6A(6U<sup>c</sup>) и с дисомным дополнением 6U<sup>c</sup> обладали одинаковыми блоками ЭФ компонентов, что свидетельствует об участии в интрогрессии одной и той же хромосомы эгилопса – 6U<sup>c</sup>.

В ЭФ спектре линии 1777/1 присутствует блок компонентов глиадина, контролируемый аллелем *Gli-A1m*, который мог попасть в линию только от сорта Саратовская 68. По данным цитогенетического анализа, линия 1777/1 несет замещение по двум хромосомам эгилопса – 5X<sup>c</sup> и 6X<sup>c</sup> (см. рис. 1, в), не характерное для остальных линий этой группы (Badaeva et al., 2018). На основании приведенных фактов можно предположить, что при создании или репродукции линии 1777/1 произошло случайное переопыление сортом Саратовская 68. Цитологически в линии идентифицировано замещение 6A(6X<sup>c</sup>), что подтверждают и данные ЭФ анализа (см. рис. 2, в).

Вторая серия линий (см. таблицу, порядковые номера 11–16) получена при участии сорта мягкой пшеницы Л-503. Аллельный состав ГК локусов у этих линий в основном соответствует первому биотипу родительского сорта, за исключением линий 1813 и 2054/3, у которых вместо аллеля *Gli-B2q* появляется аллель *Gli-Bs*, характерный для сорта Добрыня, а также линии 2304/1 с аллелем *Gli-A1f*. В кариотипах линий рассматриваемой серии отсутствует хромосома 6D, которую замещает хромосома 6U<sup>c</sup> или, в единственном случае, 6X<sup>c</sup>. Наличие этих замещений подтверждается ЭФ анализом. У линий 1813, 2054/3, 2306/3 и 2310/1 наблюдается исчезновение компонентов, кодируемых хромосомой 6D, и появление группы компонентов, соответствующих по подвижности компонентам родительской линии эгилопса (см. рис. 2, а). Единственная линия с замещением 6D хромосомы пшеницы на 6X<sup>c</sup> хромосому эгилопса – 2304/1, обладала уникальным составом компонентов глиадина, контролируемых эгилопсной хромосомой. Это подтверждает, что в

замещении участвовала хромосома из другого генома эгилопса – 6X<sup>c</sup> (см. рис. 2, з).

Следующие две линии – 2033/1 и 2034/3-1 – получены от скрещиваний, в которых участвовали сорта Добрыня и Саратовская 68. Аллельный состав ГК локусов у этих линий в целом соответствует родительскому. У линии 2034/3-1 наблюдается расщепление по локусу *Gli-A1* (см. таблицу). В кариотипе обеих линий отсутствовали хромосомы 6D, замещенные делеционными производными хромосомы 6X<sup>c</sup>. Так, у линии 2033/1 хромосома 6X<sup>c</sup> была представлена телосомиком короткого плеча (рис. 3), а у линии 2034/3-1 она имела терминальную делецию, затрагивающую приблизительно половину длинного плеча. На ЭФ спектрах обеих линий отсутствуют компоненты, контролируемые хромосомой 6D. Замещение их компонентами, аналогичными обнаруженным в линии 2304/1 и кодируемыми хромосомой 6X<sup>c</sup> эгилопса, показано только в линии 2034/3-1 (см. рис. 2, з). В ЭФ спектре линии 2033/1 компонентов, кодируемых хромосомой 6X<sup>c</sup>, не обнаружено (см. рис. 2, д).

Замещение по хромосомам 1-й гомеологической группы – 1D(1X<sup>c</sup>) обнаружено только у линии 1930 (Badaeva et al., 2018). Она ведет происхождение от сорта Л-503 и, следовательно, относится ко второй группе линий. По данным цитогенетического анализа в кариотипе линии 1930 отсутствуют хромосомы 1D и 6A (см. таблицу, рис. 1, а). Это подтверждают и данные ЭФ анализа: в спектре глиадинов нет компонентов, контролируемых хромосомой 1D, но присутствуют компоненты, которые по своей подвижности соответствуют компонентам эгилопса (см. рис. 2, е). Полипептиды, контролируемые хромосомами 1A и 1B пшеницы, соответствуют спектру родительского сорта. Отсутствие хромосом 6A компенсируется дополнительной парой хромосом 6D, одна из которых несет неидентифицируемую терминальную транслокацию в длинном плече, не затрагивающую ГК локус, гены которого экспрессируются. Это проявляется в явном усилении интенсивности окраски компонентов, контролируемых хромосомой 6D (см. рис. 2, е), что означает кратное увеличение дозы генов, а следовательно, экспрессии генов на всех четырех хромосомах 6D. Компонентов, за которые ответственна хромосома 6A, на электрофореграмме нет.

Линия 1794/1 – производная не только сорта Добрыня, но и Саратовская 68, поэтому у нее есть аллель *Gli-A1m*. В кариотипе линии 1794/1 хромосома 6D замещена парой транслоцированных хромосом T7U<sup>c</sup>S:6X<sup>c</sup>S (см. рис. 1, з и рис. 3). Отсутствие хромосомы 6D подтверждается и электрофоретически (см. рис. 2, д). В то же время в ЭФ спектре не обнаружены компоненты глиадина, контролируемые хромосомой 6X<sup>c</sup> эгилопса.

## Обсуждение

Перед использованием в селекции интрогрессивных линий, получаемых методом отдаленной гибридизации, необходимо проверить их на наличие чужеродного генетического материала, а также охарактеризовать этот генетический материал (Friebe et al., 1996; Molnár-Láng et al., 2014). С помощью цитологических подходов (дифференциальная окраска хромосом или гибридизация *in situ*) можно выявить замещенные/дополненные линии и классифи-

цировать их. Однако эти методы достаточно трудоемки и непригодны для массового анализа. Внедрение наряду с цитологическим анализом молекулярно-генетических маркеров для характеристики интрогрессивных линий расширяет возможности точной идентификации чужеродного материала, удешевляет и упрощает проведение исследований, а также позволяет оценить эффект интрогрессии чужеродных хромосом на экспрессию генов.

Для всех исследованных линий ЭФ анализ спектров глиадина подтвердил замещение хромосом 6A, 6D или 1D пшеницы гомеологичными хромосомами эгилопса, относящимися к  $U^c$  или  $X^c$ -геномам. Замещение проявлялось исчезновением продуктов экспрессии ГК генов хромосом 6A, 6D или 1D с одновременным появлением продуктов экспрессии генов, локализованных на соответствующих чужеродных хромосомах. Сравнение ЭФ спектров линий с разными генофондами пшеницы, несущими идентичные хромосомы эгилопса, показало, что ни ЭФ подвижность, ни интенсивность компонентов, входящих в состав блоков глиадина чужеродных хромосом, не меняются, т. е. не зависят от генотипа линии. Это дает возможность использовать данные маркеры для идентификации отдельных хромосом *Ae. columnaris* в генетических и селекционных линиях.

Появление в ЭФ спектрах интрогрессивных линий полипептидов, контролируемых эгилопсной хромосомой, свидетельствует об экспрессии генов этой хромосомы и ее функциональной активности в составе чужеродного для нее пшеничного генома. В свою очередь, чужеродная хромосома не влияет на работу *Gli*-генов пшеницы, экспрессирующихся в полном объеме, что подтверждается одинаковыми глиадиновыми спектрами у гибридов и родительских сортов. Такое «добрососедство» пшеничного и чужеродного генетического материала в одном ядре может рассматриваться как относительная филогенетическая близость этих видов (или части их генетического материала), которая определяется сетчатой эволюцией, в целом характерной для трибы *Triticeae*.

Однако не все замещения, включавшие хромосомы 6-й гомеологической группы эгилопса, приводили к появлению «новых» компонентов глиадина в ЭФ спектрах гибридов. Так, при анализе линий, содержащих короткое плечо хромосомы 6X<sup>c</sup> эгилопса в виде транслокации (1794/1) или телоцентрика (2033/1), не было выявлено компонентов глиадина, присутствующих у линий с замещениями полной 6X<sup>c</sup> хромосомы. Известно, что ГК гены у пшениц локализованы в терминальной части короткого плеча хромосом 1-й и 6-й гомеологических групп (Singh, Shepherd, 1988). Тем не менее у обеих этих линий ГК гены не экспрессируются, несмотря на то что короткое плечо хромосомы структурно не перестроено. С другой стороны, в ЭФ спектре линии 2034/3-1 с крупной терминальной делецией длинного плеча 6X<sup>c</sup> присутствовали все компоненты глиадина, контролируемые данной эгилопсной хромосомой. На основании этих фактов можно заключить, что гены, контролирующие синтез глиадинов, локализованы в проксимальной половине длинного плеча хромосомы 6X<sup>c</sup> *Ae. columnaris*. Возможно, перенос ГК локуса из короткого в длинное плечо хромосомы 6X<sup>c</sup> связан с крупной видоспецифической перичентрической инверсией, сопровождавшей дивергенцию *Ae. columnaris* и

филогенетически близкого к нему вида *Ae. triaristata*. В пользу этого предположения говорят и результаты цитогенетического анализа, выявившего существенные различия ортологичных хромосом 6-й группы X-генома этих видов по морфологии (Badaeva et al., 2004).

У линии 1930 цитологическими методами выявлено четыре копии хромосомы 6D (тетра-6D), причем у одной пары обнаружена терминальная транслокация в длинном плече. Усиление интенсивности ЭФ компонентов, контролируемых 6D хромосомой, свидетельствует о том, что в линии 1930 экспрессируются все локусы тетра-6D. Независимость экспрессии глиадиновых генов от наличия хромосомных перестроек можно наблюдать и на других линиях. В частности, у всех шести интрогрессивных линий, в которых большая часть хромосомы 1D, включая короткое плечо, транслоцирована на длинное плечо хромосомы 4B, ГК гены хромосомы 1D экспрессируются в полном объеме. Это свидетельствует о функционировании хромосомы 1D независимо от потери части длинного плеча и соединения с негомологичной хромосомой другого генома (4BL).

В изученной нами выборке образцов интрогрессии хромосом 6-й гомеологической группы встречались значительно чаще, чем 1-й: лишь в одной из 18 линий выявлено замещение 1D(1X<sup>c</sup>). Отсутствие замещений с участием хромосомы 1U<sup>c</sup> может быть обусловлено ее низкой компенсаторной способностью, поскольку у родительского образца K-1193 *Ae. columnaris* данная хромосома была перестроена в результате крупной транслокации. В связи с отсутствием образцов, несущих замещения или транслокации по хромосоме 1U<sup>c</sup>, мы смогли идентифицировать блоки ЭФ компонентов глиадина, контролируемые только хромосомами 1X<sup>c</sup>, 6U<sup>c</sup> и 6X<sup>c</sup> эгилопса. Компоненты спектра, генетический контроль которых остался неопределенным, мы гипотетически отнесли к полипептидам, контролируемым хромосомой 1U<sup>c</sup> (см. рис. 2, ж). Полученные данные могут быть использованы в дальнейшей работе для мониторинга селекционного материала на наличие этих хромосом.

Анализ ЭФ спектров двух видов, относящихся к разным родам – *Aegilops* и *Triticum*, позволил сделать заключение, что не существует отдельных видоспецифичных ЭФ компонентов. В то же время можно выделить специфические группы компонентов, которые наследуются в виде блоков, контролируемых кластерами сцепленных генов. Блоки компонентов различаются своей структурой, своим «рисунком». Именно эти различия и позволяют оценивать внутривидовое, а также межвидовое разнообразие. Блочный характер наследования компонентов глиадина у эгилопса свидетельствует о сходстве организационной структуры ГК локусов у представителей этих родов.

### Благодарности

Авторы выражают благодарность заведующему лабораторией генетики и цитологии ФГБНУ «НИИСХ Юго-Востока» д. б. н. С. Н. Сибикееву и к. с.-х. н. А. Е. Дружину за предоставленный материал. Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ (грант № 17-04-00087).

### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## Список литературы / References

- Упельник В.П., Новосельская-Драгович А.Ю., Шишкина А.А., Мельник В.А., Дедова Л.В., Кудрявцев А.М. Лабораторный анализ белков семян пшеницы. Технологическая инструкция. Диагностика сортового соответствия и чистоты семян пшеницы. М.: ИОГен РАН, 2013. [Upel'nik V.P., Novoselskaya-Dragovich A.Yu., Shishkina A.A., Mel'nik V.A., Dedova L.V., Kudrjavtsev A.M. The laboratory analysis of wheat seed proteins. Technological instruction. Diagnostics of varietal identity and purity of seed wheat. Moscow: Vavilov Institute of General Genetics Publ., 2013. (in Russian)]
- Шишкина А.А., Драгович А.Ю., Рубан А.С., Сибикеев С.Н., Дружин А.Е., Бадаева Е.Д. Разработка генетической классификации хромосом *Aegilops columnaris* Zhuk. на основании анализа интрогрессивных линий *Triticum aestivum* × *Ae. columnaris*. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(2):241-249. DOI 10.18699/VJ17.243. [Shishkina A.A., Dragovich A.Yu., Ruban A.S., Sibikeev S.N., Druzhin A.E., Badaeva E.D. Development of the genetic classification of *Aegilops columnaris* Zhuk. chromosomes based on the analysis of introgression lines *Triticum aestivum* × *Ae. columnaris*. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2017;21(2):241-249. DOI 10.18699/VJ17.243 (in Russian)]
- Badaeva E.D., Amosova A.V., Samatadze T.E., Zoshchuk S.A., Shostak N.G., Chikida N.N., Zelenin A.V., Raupp W.J., Friebe B., Gill B.S. Genome differentiation in *Aegilops*. 4. Evolution of the U-genome cluster. Plant. Syst. Evol. 2004;246(1-2):45-76.
- Badaeva E.D., Badaev N.S., Gill B.S., Filatenko A.A. Intraspecific karyotype divergence in *Triticum araraticum* (Poaceae). Plant. Syst. Evol. 1994;192:117-145.
- Badaeva E.D., Ruban A.S., Shishkina A.A., Sibikeev S.N., Druzhin A.E., Surzhikov S.A., Dragovich A.Y. Genetic classification of *Aegilops columnaris* Zhuk. ( $2n = 4x = 28, U^cU^cX^cX^c$ ) chromosomes based on FISH analysis and substitution patterns in common wheat × *Ae. columnaris* introgressive lines. Genome. 2018;61(2):131-143. DOI 10.1139/gen-2017-0186.
- Damania A.B., Altunji H., Dhaliwal H.S. Evaluation of *Aegilops* spp. for drought and frost tolerance. Genetic Resources Unit Annual Report, ICARDA. 1992;45-46.
- Dvořák J. Genome analysis in the *Triticum-Aegilops* alliance. In: Slinkard A.E. (Ed.) Proc. of the 9th Int. Wheat Genetics Symp., 2-7 Aug. 1998. Saskatoon, Saskatchewan: Printcrafters Inc., 1998; 8-11.
- Friebe B., Jiang J., Raupp W.J., McIntosh R.A., Gill B.S. Characterization of wheat-alien translocations conferring resistance to diseases and pests: current status. Euphytica. 1996;91:59-87.
- Garg M., Tanaka H., Ishikawa N., Takata K., Yanaka M., Tsujimoto H. A novel pair of HMW glutenin subunits from *Aegilops searsii* improves quality of hexaploid wheat. Cereal Chem. J. 2008;86:26-32.
- Garg M., Tsujimoto H., Gupta R.K., Kumar A., Kaur N., Kumar R., Chunduri V., Sharma N.K., Chawla M., Sharma S., Munday J.K. Chromosome specific substitution lines of *Aegilops geniculata* alter parameters of bread making quality of wheat. PLoS One. 2016;11: e0162350.
- Gill B.S., Friebe B., Endo T.R. Standard karyotype and nomenclature system for description of chromosome bands and structural aberrations in wheat (*Triticum aestivum*). Genome. 1991;34:830-839.
- Gill B.S., Sharma C., Raupp W.J., Browder L.E., Heachett J.H., Harvey T.L., Moseman J.G., Waines J.G. Evaluation of *Aegilops* species for resistance to wheat powdery mildew, wheat leaf rust, Hessian fly, and greenbug. Plant Dis. 1985;69:314-316.
- Kasarda D.D., Bernardin J.E., Qualset C.O. Relationship of gliadin protein components to chromosomes in hexaploid wheats (*Triticum aestivum* L.). Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1976;73:3646-3650.
- McIntosh R.A., Yamazaki Y., Dubkovsky G., Rogers J., Morris C.F., Appels R., Xia X.C. Catalogue of Gene Symbols for Wheat. The 12th Int. Wheat Genetics Symp., 8-13 Sept. 2013. Yokohama, Japan, 2013;395.
- Metakovskiy E.V., Novoselskaya A.Yu. Gliadin allele identification in common wheat. 1. Methodological aspects. J. Genet. Breed. 1991; 45:319-323.
- Molnár-Láng M., Ceoloni C., Doležel J. (Eds.). Alien Introgression in Wheat: Cytogenetics, Molecular Biology, and Genomics. Switzerland: Springer Int. Publ., 2015.
- Molnár-Láng M., Molnár I., Szakács É., Linc G., Bedő Z. Production and Molecular Cytogenetic Identification of Wheat-Alien Hybrids and Introgression Lines. In: Tuberosa R., Graner A., Frison E. (Eds.). Genomics of Plant Genetic Resources. Vol. 1. Managing, Sequencing and Mining Genetic Resources. Springer, 2014;255-284.
- Monneveux P., Zaharieva M., Rekika D. The utilisation of *Triticum* and *Aegilops* species for the improvement of durum wheat. In: Royo C., Nachit M., Di Fonzo N., Araus J.L. (Eds.). Durum Wheat Improvement in the Mediterranean Region: New Challenges. Zaragoza: CIHEAM, 2000;71-81.
- Novoselskaya-Dragovich A.Yu. Genetics and genomics of wheat: storage proteins, ecological plasticity, and immunity. Russ. J. Genet. 2015;51(5):476-490. DOI 10.1134/S102279541505004X.
- Novoselskaya-Dragovich A.Yu., Krupnov V.A., Saifulin R.A., Puhalskiy V.A. Dynamics of genetic variation at gliadin coding loci in Saratov cultivars of common wheat *Triticum aestivum* L. for over eight decades of scientific breeding. Russ. J. Genet. 2003;39(10):1130-1137.
- Rakszegi M., Molnár I., Lovegrove A., Darkó É., Farkas A., Láng L., Bedő Z., Doležel J., Molnár-Láng M., Shewry P. Addition of *Aegilops* U and M chromosomes affects protein and dietary fiber content of wholemeal wheat flour. Front. Plant Sci. 2017;8:1529. DOI 10.3389/fpls.2017.01529.
- Rawat N., Neelam K., Tiwari V.K., Randhawa G.S., Friebe B., Gill B.S., Dhaliwal H.S. Development and molecular characterization of wheat-*Aegilops kotschy* addition and substitution lines with high grain protein, iron, and zinc. Genome. 2011;54:943-953.
- Schneider A., Molnár I., Molnár-Láng M. Utilisation of *Aegilops* (goat-grass) species to widen the genetic diversity of cultivated wheat. Euphytica. 2008;163:1-19.
- Shepherd K.W. Chromosomal control of endosperm proteins in wheat and rye. In: Finlay K.W., Shepherd K.W. (Eds.). Proc. of the 3rd Int. Wheat Genetics Symp. Canberra: Austral. Acad. Sci., 1968;86-96.
- Singh N.K., Shepherd K.W. Linkage mapping of genes controlling endosperm storage proteins in wheat: 1. Genes on the short arms of group 1 chromosomes. Theor. Appl. Genet. 1988;75:628-641.
- Tiwari V., Rawat N., Neelam K., Kumar S., Randhawa G., Dhaliwal H. Substitutions of 2S and 7U chromosomes of *Aegilops kotschy* in wheat enhance grain iron and zinc concentration. Theor. Appl. Genet. 2010;121(2):259-269.
- Warham E.J., Mujeeb-Kazi A., Rosas V. Karnal bunt (*Tilletia indica*) resistance screening of *Aegilops* species and their practical utilization for *Triticum aestivum* improvement. Can. J. Plant Pathol. 1986; 8:65-70.