

Перевод на английский язык <https://vavilov.elpub.ru/jour>

Межфазный период «всходы–колошение» у 8х и 6х тритикале с различными доминантными генами *Vrn*

П.И. Стёпочкин¹✉, А.И. Стасюк²

¹ Сибирский научно-исследовательский институт растениеводства и селекции – филиал Федерального исследовательского центра Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, пос. Краснообск, Новосибирская область, Россия

² Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия
✉ petstep@ngs.ru

Аннотация. Существующие коллекционные формы яровых пшенично-ржаных амфиплоидов характеризуются позднеспелостью из-за большой продолжительности межфазного периода «всходы–колошение». На проявление этого признака влияют гены *Vrn-1*, аллели которых в доминантном состоянии обуславливают яровой тип развития. В статье приведены результаты изучения межфазного периода «всходы–колошение» у яровых окта- и гексаплоидных форм тритикале, создаваемых для использования в исследовательских и селекционных программах в условиях лесостепи Западной Сибири. Исследования проводили в питомнике октаплоидных (8х) тритикале в полевых условиях у первичных форм *8xVrnA1*, *8xVrnD1* и *8xVrnB1*, полученных искусственным удвоением числа хромосом пшенично-ржаных гибридов от опыления пыльцой озимой ржи (сорт Короткостебельная 69) трех линий мягкой пшеницы Triple Dirk – доноров разных доминантных генов *Vrn-1*. В питомнике гексаплоидных (6х) тритикале изучали этот признак растений в популяциях гибридов от скрещиваний трех форм первичных октаплоидных тритикале с гексаплоидным озимым сортом тритикале Сирс 57. С помощью молекулярных маркеров у гибридов определен аллельный состав генов *Vrn-1*. В потомстве, полученном от скрещивания *8xVrnD1* × Сирс 57, выделены и определены методом ПЦР генотипы яровых растений 6х тритикале с доминантным геном *Vrn-D1*. Данный факт свидетельствует о включении в них генетического материала хромосомы пятой гомеологичной группы генома D мягкой пшеницы, входящего в геномный состав октаплоидного тритикале. Этот геном отсутствует в озимом 6х тритикале Сирс 57. У созданных гексаплоидных форм тритикале озерненность колоса была лучше, чем у материнских октаплоидных. Показано, что растения из гибридных популяций *8xVrnA1* × Сирс 57 и *8xVrnD1* × Сирс 57, несущие доминантные аллели *Vrn-A1a* и *Vrn-D1a* соответственно, обладают более короткой продолжительностью межфазного периода «всходы–колошение», чем исходные родительские формы первичных 8х тритикале. Короткий межфазный период «всходы–колошение» у полученных 6х тритикале является селекционно ценным признаком для создания раннеспелых и продуктивных генотипов тритикале. Ключевые слова: октаплоидные; гексаплоидные тритикале; межфазный период «всходы–колошение»; гены *Vrn-1*; гибриды.

Для цитирования: Стёпочкин П.И., Стасюк А.И. Межфазный период «всходы–колошение» у 8х и 6х тритикале с различными доминантными генами *Vrn*. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2021;25(6):631-637. DOI 10.18699/VJ21.071

The interphase period “germination–heading” of 8x and 6x triticales with different dominant *Vrn* genes

P.I. Stepochkin¹✉, A.I. Stasyuk²

¹ Siberian Research Institute of Plant Production and Breeding – Branch of the Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Krasnoobsk, Novosibirsk region, Russia

² Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia
✉ petstep@ngs.ru

Abstract. The existing spring forms of wheat-rye amphiploids are characterized by late maturity due to the long duration of the interphase period “germination–heading”. The manifestation of this trait is influenced by *Vrn-1* genes. Their dominant alleles also determine the spring type of development. The results of studying the interphase period “germination–heading” of spring octaploid and hexaploid forms of triticales created for use in research and breeding programs under the conditions of forest-steppe of Western Siberia are given in this article. The interphase period of the primary forms *8xVrnA1*, *8xVrnB1* and *8xVrnD1* obtained by artificial doubling of the chromosome number of the wheat-rye hybrids made by pollination of three lines of the soft wheat ‘Triple Dirk’ – donors of different dominant *Vrn-1* genes – by a winter rye variety ‘Kortkostebel’naya 69’ was determined under the field conditions in the nursery of octaploid (8x) triticales. In the nursery of hexaploid triticales, this trait was studied in the populations of hybrids obtained by hybridization of these three primary forms of octaploid triticales with the hexaploid winter triticales variety ‘Sears 57’. In the offspring of crossing *8xVrnD1* × ‘Sears 57’, spring genotypes of 6x triticales bearing *Vrn-D1* were selected. This fact was determined

by PCR. It means that the genetic material from the chromosome of the fifth homeologous group of the D genome of the bread wheat is included in the plant genotypes. This genome is absent in the winter 6x triticale 'Sears 57'. The grain content of spikes of the created hexaploid forms of triticale is superior to that of the maternal octaploid triticale forms. It was shown that plants of the hybrid populations 8x*VrnA1* × 'Sears 57' and 8x*VrnD1* × 'Sears 57' carrying the dominant alleles *Vrn-A1a* and *Vrn-D1a*, respectively, have a shorter duration of the "germination–heading" interphase period than the initial parental forms of primary 8x triticale. The short interphase period of "germination–heading" of the 6x triticale is a valuable breeding trait for the creation of early maturing and productive genotypes of triticale.

Key words: octaploid; hexaploid triticale; interphase period "germination–heading"; *Vrn-1* genes; hybrids.

For citation: Stepochkin P.I., Stasyuk A.I. The interphase period "germination–heading" of 8x and 6x triticale with different dominant *Vrn* genes. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii* = *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2021;25(6): 631–637. DOI 10.18699/VJ21.071

Введение

За более чем 130-летнюю историю искусственной зерновой культуры тритикале (*×Triticosecale* Wittmack), или пшенично-ржаного амфиплоида (ПА), совмещающей геномы пшеницы (*Triticum* spp.) и ржи (*Secale* spp.), в мире созданы сорта и коллекционные формы как озимого, так и ярового образа жизни. По последним данным всемирной организации ФАО, в 2017 г. общая площадь посевов этой культуры достигала почти 4.17 млн га, а производство зерна – 15.6 млн т. В Российской Федерации в 2017 г. снизилась площадь посевов до 171.7 тыс. га по сравнению с максимальным значением в 2014 г. – 274.5 тыс. га. Сбор зерна за эти годы составил 500.7 и 654.1 тыс. т соответственно (<http://www.fao.org/faostat/ru/#data/QC/visualize>). Данное обстоятельство связано с уменьшением в последнее время в РФ селекционных работ, в частности направленных на создание сортов пшенично-ржаных амфиплоидов.

В сельскохозяйственной практике применение нашли преимущественно гексаплоидные (6x) тритикале (V^4B^4AARR , $2n = 42$), которые по сравнению с октаплоидными (8x) ($V^4B^4AADDRR$, $2n = 56$) являются более цитогенетически стабильными и фертильными (Lukaszewski, Gustafson, 1987). Однако имеются также редкие сообщения об успешном возделывании 8x тритикале (Cheng, Murata, 2002).

В Сибирском регионе эта культура пока не получила широкого распространения, так как селекция яровых тритикале не велась, яровые образцы из мировой коллекции ВИР позднеспелые, а озимые сорта европейской селекции в климатических условиях Сибири плохо перезимовывают и часто не дают урожая. Созданные в СибНИИРС (филиал ИЦиГ СО РАН) два озимых низкостебельных сорта зернофуражного направления – Сирс 57 и Цекад 90 – занимают лишь несколько десятков тысяч гектаров. Яровых сортов в России создано более десятка (Tyslenko et al., 2016), но сибирских сортов ярового тритикале пока нет, хотя яровые культуры разных видов (пшеница, тритикале) ежегодно дают урожай, в отличие от озимых. Для того чтобы успешно проводить селекционную работу с яровым тритикале, необходимо разносторонне изучать признаки, связанные с продуктивностью и адаптивностью растений, в том числе и те, которые касаются типа развития растения и продолжительности вегетационного периода.

Тип развития (яровой, озимый, факультативный) и продолжительность вегетационного периода контролируются генами *Vrn* (response to vernalization – реакция на яровизацию). Из них ключевую роль у видов пшениц играют

гены *Vrn-1*: *Vrn-A1*, *Vrn-B1* и *Vrn-D1* (Yan et al., 2003; Muterko et al., 2015, 2016; Shcherban et al., 2015; Dixon et al., 2019), которые содержатся в каждом из трех геномов мягкой пшеницы А, В и D, в длинных плечах хромосом 5А, 5В и 5D соответственно. Известен также ген *Vrn-D4*, локализованный в районе центromеры хромосомы 5D (Yoshida et al., 2010; Kirpes et al., 2015), и ген *Vrn-B3* в коротком плече хромосомы 7В (Yan et al., 2006). Проведенные исследования выявили наличие нескольких аллелей у каждого из генов *Vrn* (Yan et al., 2004; Fu et al., 2005; Shcherban et al., 2012; Muterko et al., 2015). Доминантное состояние любого из этих генов приводит к яровому типу развития, а рецессивное – к озимому (Pugsley, 1971; Worland, 1996; Yan et al., 2003, 2004, 2006; Fu et al., 2005). У ржи тип развития контролируется геном *Vrn-R1*, расположенным в длинном плече хромосомы 5R (Plaschke et al., 1993).

Изучение яровых сортов пшеницы показало, что в основном гены *Vrn-1* определяют продолжительность фаз от кущения до выхода в трубку. Продолжительность периода от всходов до колошения зависит от аллельного состояния генов *Vrn-1*. Растения, содержащие аллель *Vrn-B1c*, выколашиваются раньше, чем растения с аллелем *Vrn-B1a* (Емцева и др., 2013), а наличие аллеля *Vrn-A1a* приводит к более раннему колошению по сравнению с аллелями *Vrn-B1a* или *Vrn-B1c* (Кручинина и др., 2017). Наибольшим эффектом у мягкой пшеницы *T. aestivum* L. обладает доминантный ген *Vrn-A1*, а наименьшим – доминантный ген *Vrn-B1* (Košner, Pánková, 2004). У линий октаплоидных тритикале, созданных на основе почти изогенных по доминантным генам *Vrn-1* линий мягкой пшеницы Triple Dirk, растения с генами *Vrn-A1a* и *Vrn-D1a* выколашивались раньше, чем те, у которых был ген *Vrn-B1a* (Стёпочкин, Емцева, 2017).

Цель данной статьи – изучить в условиях лесостепи Западной Сибири продолжительность межфазного периода «всходы–колошение» у создаваемых в Сибирском НИИ растениеводства и селекции (СибНИИРС) яровых окта- и гексаплоидных форм тритикале с разными доминантными генами *Vrn-1*.

Материал и методы

Продолжительность межфазного периода «всходы–колошение» октаплоидных (8x) и гексаплоидных (6x) тритикале с различными доминантными генами *Vrn-1*, влияющими на продолжительность вегетационного периода растений, изучали в разных поколениях: F₁ – в 2014 г., F₃ – в 2016, F₄ – в 2017, F₅ – в 2018, F₆ – в 2019 г.

Три первичные 8х формы тритикале были получены в СибНИИРС путем скрещивания озимой диплоидной ржи сорта Короткостебельная 69 с почти изогенными линиями мягкой пшеницы Triple Dirk D, Triple Dirk B и Triple Dirk E (Pugsley, 1971, 1972). Последние являются источниками и донорами доминантных генов *Vrn-A1*, *Vrn-B1* и *Vrn-D1* соответственно, с последующим удвоением числа хромосом у пшенично-ржаных гибридов (Стёпочкин, 2009, 2017). Аллельный состав генов *Vrn-1* у этих трех 8х ПРА следующий: *Vrn-A1a*, *vrn-B1*, *vrn-D1*, *vrn-R1* (*8xVrnA1*); *vrn-A1*, *Vrn-B1a*, *vrn-D1*, *vrn-R1* (*8xVrnB1*); *vrn-A1*, *vrn-B1*, *Vrn-D1a*, *vrn-R1* (*8xVrnD1*).

Яровые гексаплоидные формы тритикале создавали путем отбора наиболее раннеспелых растений в потомствах F₃–F₄ гибридов между первичными 8х ПРА и озимым 6х тритикале Сирс 57, несущим рецессивные гены *vrn-A1*, *vrn-B1*, *vrn-R1* (рис. 1). Аллельный состав генов *Vrn-1* у растений гибридных популяций и родительских форм определяли с помощью метода ПЦР с использованием аллель-специфичных праймеров. Структура праймеров к *Vrn-1* генам и условия ПЦР описаны в работах (Potokina et al., 2012; Likhenko et al., 2015).

Геномную ДНК выделяли по ранее описанной методике (Likhenko et al., 2015). ПЦР проводили на амплификаторе BIO-RAD T-100 Thermal Cycler (США) в общем объеме реакционной смеси 20 мкл, включающей ДНК (50–100 нг/мкл) – 1 мкл, 10×буфер для Taq полимеразы (650 mM Tris-HCl (pH 8.9); 160 mM (NH₄)₂SO₄; 25 mM MgCl₂; 0.5 % Tween 20) – 2 мкл, dNTP – 2 мкл, прямой и обратный праймер – по 0.5 мкл, Taq полимеразы (1 ед./мкл) – 1 мкл, H₂O – до конечного объема 20 мкл. Продукты ПЦР разделяли с помощью электрофореза в 1 % агарозном геле с добавлением бромистого этидия.

Посев в открытом грунте вручную проводили в третьей декаде мая (21–24 мая в разные годы в зависимости от погоды) в ряды длиной 0.8 м, по 50 семян в ряд на изолированном от зерновых культур опытном участке СибНИИРС, где поддерживается трехпольный севооборот: овощи–пар–тритикале. В течение вегетационного периода проводили фенологические наблюдения и оценки. Статистическая обработка результатов выполнена с помощью *t*-критерия Стьюдента (Доспехов, 1985).



Рис. 1. Колосья растений яровых октаплоидных тритикале *8xVrnA1* (1), *8xVrnD1* (2), *8xVrnB1* (3) и озимого гексаплоидного тритикале Сирс 57 (4).

Результаты

Оценка растений в популяциях первичных октаплоидных ПРА показала, что продолжительность межфазного периода «всходы–колошение» у образцов *8xVrnA1* и *8xVrnD1* в 2018 и 2019 гг. была короче, чем в 2014, 2016 и 2017 (табл. 1). В 2019 г. самый короткий период «всходы–колошение» среди октаплоидных ПРА наблюдался у *8xVrnA1* (52.9 сут), а самый длительный (72.5 сут) – у *8xVrnB1*. У материнской формы *8xVrnD1* этот показатель был 53.8 сут. Среди гексаплоидных форм у растений, полученных от скрещивания *8xVrnA1* × 6х Сирс 57 в 2019 г., отмечен самый короткий период «всходы–колошение» (47.3 сут), а у гибридов *8xVrnB1* × 6х Сирс 57 – самый длительный (57.8 сут). По сравнению с материнскими формами произошло сокращение периода «всходы–колошение» на 6х уровне на 6 и 14 дней соответственно. У 6х растений, полученных от скрещивания *8xVrnD1* × Сирс 57, продолжительность периода от всходов до колошения составила 53.4 сут, что достоверно не отличалось от показателя ярового октаплоидного родителя. При сравнении данных по всем годам исследований можно отметить, что отбор самых раннеспелых растений в каждом поколении привел к значительному сокращению продолжительности периода от всходов до колошения как у гексаплоидных, так и у материнских октаплоидных тритикале. Исключе-

Таблица 1. Продолжительность межфазного периода «всходы–колошение» гибридных гексаплоидных и материнских октаплоидных растений тритикале с разными доминантными генами *Vrn-1*

Гибриды и материнские формы тритикале	Длительность межфазного периода «всходы–колошение», сут (m ± sem)				
	2014 г.	2016 г.	2017 г.	2018 г.	2019 г.
<i>8xVrnA1</i> × Сирс 57	69.2 ± 1.3*	66.1 ± 3.3	55.0 ± 1.9**	45.1 ± 2.5*	47.3 ± 1.9*
<i>8xVrnD1</i> × Сирс 57	75.9 ± 2.1**	68.3 ± 1.7	63.3 ± 2.4	55.2 ± 6.7	53.4 ± 1.7
<i>8xVrnB1</i> × Сирс 57	79.6 ± 4.4	71.7 ± 1.5	68.6 ± 3.4	56.4 ± 2.1**	57.8 ± 1.5**
<i>8xVrnA1</i>	65.2 ± 1.7	65.1 ± 2.0	61.7 ± 1.1	51.0 ± 1.8	52.9 ± 1.4
<i>8xVrnD1</i>	67.0 ± 1.9	66.3 ± 0.7	63.9 ± 1.0	49.5 ± 2.6	53.8 ± 2.1
<i>8xVrnB1</i>	73.6 ± 1.9	71.3 ± 0.9	69.0 ± 3.1	71.2 ± 4.3	72.5 ± 1.6

* *p* < 0.05; ** *p* < 0.01 – достоверные различия между гибридом и материнской формой 8х тритикале.



Рис. 2. Колосья растений тритикале: октаплоидные 8xVrnA1 (1), 8xVrnB1 (2), 8xVrnD1 (3) и гексаплоидные, полученные от скрещивания 8xVrnA1 × Сирс 57 (4), 8xVrnB1 × Сирс 57 (5), 8xVrnD1 × Сирс 57 (6).

нием является родительская форма 8xVrnB1, у которой по всем годам исследований не обнаружено значительных изменений по продолжительности этого периода.

По морфологии колоса гексаплоидные тритикале отличаются от исходных октаплоидных форм (рис. 2). Все октаплоидные тритикале безостые, а у гексаплоидных форм имеются, как и у отцовской озимой формы Сирс 57, небольшие рудименты остей, в основном на конце колоса. У октаплоидного амфиплоида 8xVrnD1 так же, как и у полученного на его основе гексаплоида 6xVrnD1 (гибрид 8xVrnD1 × Сирс 57), опушен колос – признак, унаследованный от пшеницы Triple Dirk E (*VrnD1*).

При оценке важных для практического использования признаков было отмечено, что колос у всех гексаплоидов более плотный и озерненный, чем у 8x тритикале (табл. 2). Количество зерен в колосе у 6x форм в 2019 г. изменялось от 25.8 шт. у гибридов 8xVrnB1 × Сирс 57 до 36.4 шт. у 8xVrnA1 × Сирс 57, а у октаплоидных форм – от 9.1 шт. у 8xVrnD1 до 16.4 шт. у 8xVrnA1. Масса зерен с колоса варьировала у 6x форм от 0.76 ± 0.10 до 1.28 ± 0.21 г, а у 8x форм – от 0.24 ± 0.03 до 0.50 ± 0.13 г. Кроме того, натура зерна у гексаплоидных форм несколько выше, чем у 8x ПРА. По массе 1000 зерен достоверных различий между гекса- и октаплоидными тритикале не найдено.

Сочетание раннеспелости, которая в большей степени обусловлена продолжительностью межфазного периода «всходы–колошение», и озерненности колоса делает перспективными для дальнейшей селекционной работы два гексаплоида – 8xVrnA1 × Сирс 57 и 8xVrnD1 × Сирс 57.

Отобранные раннеспелые гексаплоидные растения были проанализированы с помощью метода ПЦР с использованием аллель-специфичных праймеров к генам *Vrn-1*. В качестве контроля были взяты их родители – озимый сорт тритикале Сирс 57 и октаплоидные материнские формы (рис. 3). Анализ показал, что озимый сорт Сирс 57 несет рецессивные аллели *vrn-A1*, *vrn-B1* и *vrn-D1*. Для материнских форм получен следующий аллельный состав: 8xVrnA1 – *Vrn-A1a*, *vrn-B1*, *vrn-D1*; 8xVrnB1 – *vrn-A1*, *Vrn-B1a*, *vrn-D1*; 8xVrnD1 – *vrn-A1*, *vrn-B1*, *Vrn-D1a*. Потомки от скрещивания 8xVrnA1 × Сирс 57 оказались гетерозиготными по гену *Vrn-A1*, так как они содержат два аллеля – *Vrn-A1a* и *vrn-A1*. Кроме того, у них выявлен рецессивный аллель *vrn-B1*, а аллели гена *Vrn-D1* не были определены в связи с отсутствием продукта амплификации. Растения из гибридной популяции 8xVrnB1 × Сирс 57 несут рецессивный аллель *vrn-A1*, последовательность гена *Vrn-D1* у них амплифицировать не удалось. По гену *Vrn-B1* растения являются гетерозиготными и несут два аллеля, *Vrn-B1a* и *vrn-B1*. У растений, полученных от скрещивания 8xVrnD1 × Сирс 57, выявлены два рецессивных аллеля (*vrn-A1*, *vrn-B1*) и один доминантный (*Vrn-D1a*).

Обсуждение

В результате скрещивания первичных 8x ПРА, несущих доминантные аллели генов *Vrn-1*, с 6x ПРА, несущими рецессивные аллели, были получены вторичные яровые 6x тритикале с доминантными аллелями *Vrn-1*. При этом гены *Vrn-1* по силе действия на сокращение периода «всходы–колошение» на 6x уровне в потомствах гибридов во всех изученных поколениях сохраняют почти такое же ранжирование (8xVrnA1 × 6x Сирс 57 > 8xVrnD1 × 6x Сирс 57 > 8xVrnB1 × 6x Сирс 57), как и на 8x уровне у тритикале (8xVrnA1 ≥ 8xVrnD1 > 8xVrnB1). Последние, в свою очередь, повторили ранжирование данных генов у исходных линий Triple Dirk (Стёпочкин, 2009; Стёпочкин, Емцева, 2017). Таким образом, действие доминантных аллелей *Vrn-A1a* и *Vrn-D1a* приводит к более короткому

Таблица 2. Некоторые количественные признаки колоса 8x и 6x тритикале с разными генами *Vrn-1*, 2019 г.

Наименование тритикале	Плотность колоса	Число зерен колоса, шт.	Масса зерен колоса, г	Масса 1000 зерен, г	Натура зерна, г/л
8xVrnA1	2.01 ± 0.06*	16.4 ± 3.1**	0.50 ± 0.13*	30.5 ± 4.0	563 ± 16*
8xVrnB1	1.89 ± 0.07**	10.2 ± 2.7**	0.25 ± 0.04**	25.4 ± 4.0	538 ± 2*
8xVrnD1	1.95 ± 0.06**	9.1 ± 1.4**	0.24 ± 0.03**	26.7 ± 2.0	578 ± 13
8xVrnA1 × Сирс 57	2.52 ± 0.08	36.4 ± 4.4	1.28 ± 0.21	35.1 ± 2.5	650 ± 10
8xVrnB1 × Сирс 57	2.60 ± 0.04	25.8 ± 2.2	0.76 ± 0.10	29.2 ± 2.1	591 ± 8
8xVrnD1 × Сирс 57	2.74 ± 0.07	36.1 ± 3.1	1.20 ± 0.10	33.1 ± 1.4	589 ± 12
Сирс 57 (6x)	2.87 ± 0.04	30.0 ± 1.9	0.92 ± 0.17	30.8 ± 6.1	542 ± 9

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ – достоверные различия между гибридом и материнской формой 8x тритикале.

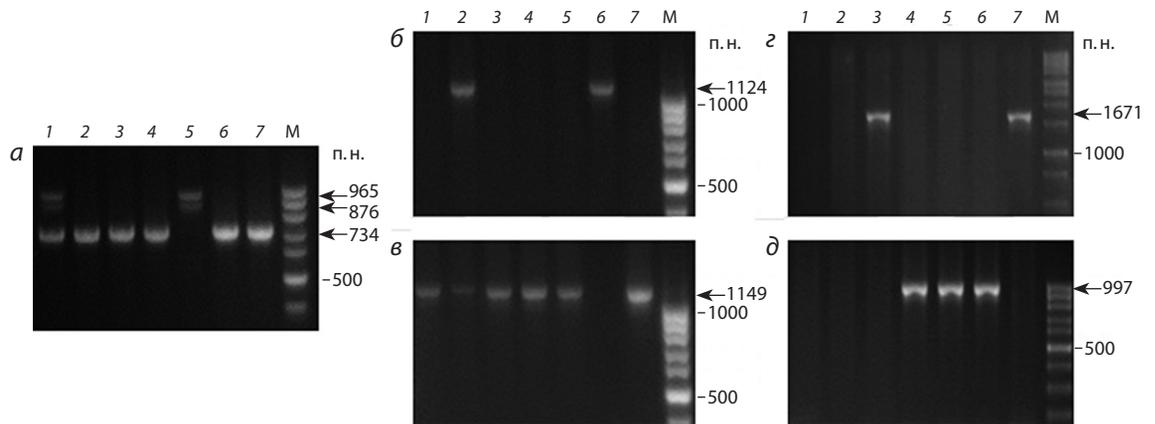


Рис. 3. Амплификация ПЦР-продуктов с использованием праймеров к генам *Vrn-1* у гексаплоидных гибридов тритикале и родительских форм: а – *Vrn-A1a* (965 + 876 п.н.) и *vrn-A1* (734 п.н.); б – *Vrn-B1a* (1124 п.н.); в – *vrn-B1* (1149 п.н.); г – *Vrn-D1a* (1671 п.н.); д – *vrn-D1* (997 п.н.).

1–3 – гибриды $8xVrnA1 \times$ Сирс 57, $8xVrnB1 \times$ Сирс 57 и $8xVrnD1 \times$ Сирс 57 соответственно; 4 – озимый сорт Сирс 57; 5–7 – яровые октаплоидные формы $8xVrnA1$, $8xVrnB1$ и $8xVrnD1$ соответственно; М – маркер длины фрагментов ДНК (а–в, д – 100 bp ladder; г – 1000 bp ladder).

межфазному периоду по сравнению с эффектом аллеля *Vrn-B1a*. Известно, что кроме гена *Vrn-D1* в хромосоме 5D локализован также ген *Vrn-D4*, который может оказывать существенное влияние на продолжительность периода от всходов до колошения (Kirpes et al., 2014). Теоретически существует вероятность, что наряду с геном *Vrn-D1* может происходить встройка гена *Vrn-D4*. Однако в нашем случае это исключено, поскольку для получения первичных октаплоидных тритикале использовались изогенные по генам *Vrn* линии пшеницы Triple Dirk D, Triple Dirk B и Triple Dirk E, несущие соответственно только гены *Vrn-A1*, *Vrn-B1* и *Vrn-D1*. Сравнение набора 8х тритикале и образцов из мировой коллекции ВИР показало, что гексаплоидные тритикале обладают более коротким межфазным периодом «всходы–колошение» (Стёпочкин, Емцева, 2017). Высказывалось предположение, что, снижая уровень плоидности, можно сократить продолжительность периода от всходов до колошения у пшенично-ржаных амфилоидов. В частности, в пределах комбинации скрещивания октаплоидные линии выколашивались позже гексаплоидных (Каминская и др., 2005).

У гексаплоидного отцовского сорта Сирс 57 (геномная формула B^uB^uAARR) озимый тип развития, т. е. все гены *vrn-1* представлены рецессивными аллелями. Материнские формы – три яровых октаплоида (геномная формула B^uB^uAADRR), каждый из которых несет по одному доминантному гену: $8xVrnA1$ несет аллель *VrnA1a* в хромосоме 5A, $8xVrnB1$ содержит аллель *VrnB1a* в хромосоме 5B, $8xVrnD1$ несет аллель *Vrn-D1a* в хромосоме 5D генома D. Предполагалось, что у гибридов $8xVrnD1 \times$ Сирс 57 в последующих поколениях, начиная с F_2 , хромосомы гаплоидного генома D в ходе мейоза будут теряться и доля озимых растений в популяциях гибридов увеличится. В итоге в старших поколениях будут только озимые гексаплоидные формы с числом хромосом 42, без гаплоидного генома D и лишённые доминантного аллеля *Vrn-D1a*. Факты полной элиминации хромосом генома D в таких типах скрещивания известны в литературе (Нао

et al., 2013). Однако отбором яровых растений к четвертому поколению нам удалось создать популяции 6х форм, способных полностью переходить к генеративному развитию при весеннем севе без яровизации. Молекулярно-генетический анализ с помощью метода ПЦР показал наличие у этих форм доминантного аллеля *Vrn-D1a* (см. рис. 3). Значит, в результате либо замещения хромосом, либо транслокации ген *Vrn-D1* остался в сложном геноме гексаплоидных растений. В литературе имеются сведения о включении генетического материала генома D пшеницы в геном гексаплоидных тритикале (Каминская и др., 2005). В отличие от растений из популяции $8xVrnD1 \times$ Сирс 57, у гексаплоидных тритикале, полученных от скрещиваний $8xVrnA1 \times$ Сирс 57 и $8xVrnB1 \times$ Сирс 57, молекулярный анализ с праймерами к гену *Vrn-D1* не дал результатов, хотя материнские формы содержат рецессивный аллель *vrn-D1*. Отсутствие амплификации, вероятно, связано как раз с элиминацией хромосом генома D.

Следует отметить, что полученные октаплоидные тритикале цитогенетически нестабильны. В результате нарушений в мейозе образуются гаметы с несбалансированным числом хромосом, что приводит к появлению в популяциях 8х ПРА анеуплоидных растений (Vettel, 1960a, b; Krolow, 1962, 1963). Гексаплоидные тритикале с доминантными генами *Vrn-1* могут возникнуть в результате спонтанного процесса деплоидизации октаплоидных ПРА, несущих эти гены. Этот процесс сопровождается преимущественной элиминацией хромосом генома D мягкой пшеницы у октаплоидных ПРА и появлением стабильных 6х тритикале, что и обнаружено в популяциях ряда 8х тритикале (Стёпочкин, 1978; Li et al., 2015).

Закключение

Представленные результаты показали, что созданные и поддерживаемые в СибНИИРС – филиале ИЦиГ СО РАН популяции яровых октаплоидных тритикале являются донорами разных доминантных генов *Vrn-1*. Эти популяции

используются для получения новых форм 8x и 6x ПРА и в селекционном процессе. С помощью молекулярно-генетического анализа у созданных на их основе гексаплоидных тритикале определен аллельный состав генов *Vrn-1*. Выявлено, что у растений из популяций 8x*VrnA1* × Сирс 57 и 8x*VrnB1* × Сирс 57 имеются гены *Vrn-A1* и *Vrn-B1* в гетерозиготном состоянии, поэтому необходимо провести дальнейший отбор для создания гомозиготных генотипов. У созданных гексаплоидных форм тритикале озерненность колоса лучше, чем у исходных октаплоидных. Показано, что растения из гибридных популяций 8x*VrnA1* × Сирс 57 и 8x*VrnD1* × Сирс 57, несущие доминантные аллели *Vrn-A1a* и *Vrn-D1a* соответственно, обладают более короткой продолжительностью межфазного периода «всходы–колошение», чем исходные родительские формы первичных 8x тритикале, что является селекционно ценным признаком для создания раннеспелых и продуктивных генотипов тритикале.

Список литературы / References

Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). М., 1985.

[Dospikhov B.A. Methodology of Field Experiments with the Fundamentals of Statistical Processing of Results. Moscow, 1985. (in Russian)]

Емцева М.В., Ефремова Т.Т., Арбузова В.С. Влияние аллелей *Vrn-B1a* и *Vrn-B1c* на продолжительность фаз развития замещенных и изогенных линий мягкой пшеницы. *Генетика*. 2013;49(5): 632-640. DOI 10.7868/S0016675813050056.

[Emtseva M.V., Efremova T.T., Arbuzova V.S. The influence of *Vrn-B1a* and *Vrn-B1c* alleles on the length of developmental phases of substitution and near-isogenic lines of common wheat. *Russ. J. Genet.* 2013;49(5):545-552. DOI 10.1134/S1022795413050050.]

Каминская Л.Н., Корень Л.В., Леонова И.Н., Адонина И.Г., Хотылева Л.В., Салина Е.А. Создание линий тритикале, маркированных *Vrn*-генами, и их молекулярно-генетический анализ. *Вестн. ВОГУС*. 2005;9(4):481-489.

[Kaminskaya L.N., Koren L.V., Leonova I.N., Adonina I.G., Khotyleva L.V., Salina E.A. Development of triticales lines tagged with *Vrn* genes and their molecular-genetic study. *Informatsionny Vestnik VOGiS = The Herald of Vavilov Society for Geneticists and Breeders*. 2005;9(4):481-489. (in Russian)]

Кручинина Ю.В., Ефремова Т.Т., Чуманова Е.В., Попова О.М., Арбузова В.С., Першина Л.А. Влияние аллелей *Vrn-B1* на продолжительность фаз развития замещенных и изогенных линий мягкой пшеницы при естественном длинном дне. *Международ. журн. прикл. и фундам. исследований*. 2017;1:278-286.

[Kruchinina Y.V., Efremova T.T., Chumanova E.V., Popova O.M., Arbuzova V.S., Pershina L.A. Influence of *Vrn-B1* alleles on the phase duration of development of substituted and isogenic wheat lines under natural long day. *Mezhdunarodny Zhurnal Prikladnykh i Fundamentalnykh Issledovaniy = International Journal of Applied and Fundamental Research*. 2017;1:278-286. (in Russian)].

Стёпочкин П.И. Появление растений 6x тритикале в потомстве C_2 гомогеномных 8x тритикале. *Генетика*. 1978;14(9):1658-1659.

[Stepochkin P.I. The appearance of 6x triticales plants among the C_2 offspring of homogenomic 8x triticales. *Genetika = Genetics (Moscow)*. 1978;14(9):1658-1659. (in Russian)]

Стёпочкин П.И. Создание и изучение серии по генам *Vrn* форм тритикале. *Сиб. вестн. с.-х. науки*. 2009;11:26-32.

[Stepochkin P.I. Development and study of a set of triticales forms as to the *Vrn* genes. *Sibirskiy Vestnik Selskokhozyaystvennoy Nauki = Siberian Herald of Agricultural Sciences*. 2009;11:26-32. (in Russian)]

Стёпочкин П.И. Изучение продолжительности фазы «всходы–колошение» у гибридов ранних поколений яровых тритикале разных уровней плоидности. *Вестн. АПК Ставрополя*. 2017; 1(25):148-152.

Stepochkin P.I. Study of duration of the “shoots–earring” phase of the spring triticales early generations hybrids of different ploidy levels. *Vestnik APK Stavropolya = Agricultural Bulletin of Stavropol Region*. 2017;1(25):148-152. (in Russian)]

Стёпочкин П.И., Емцева М.В. Изучение межфазного периода «всходы–колошение» у исходных родительских форм и гибридов тритикале с разными генами *Vrn*. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2017;21(5):530-533. DOI 10.18699/VJ17.22-о.

[Stepochkin P.I., Emtseva M.V. Study of the interphase period “shoots–earring” of the initial parental forms and hybrids of triticales with different *Vrn* genes. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2017;21(5):530-533. DOI 10.18699/VJ17.22-о. (in Russian)]

Cheng Z.-J., Murata M. Loss chromosomes 2R and 5RS in octoploid triticales selected for agronomic traits. *Genes. Genet. Syst.* 2002;7: 23-29.

Dixon L., Karsai I., Kiss T., Adamski N., Liu Z., Ding Y., Allard V., Boden S., Griffiths S. *VERNALIZATION1* controls developmental responses of winter wheat under high ambient temperatures. *Development*. 2019;146(3):dev172684. DOI 10.1242/dev.172684.

Fu D., Szücs P., Yan L., Helguera M., Skinner J.S., Zitzewitz J., Hayes P.M., Dubcovsky J. Large deletions within the first intron in *VRN-1* are associated with spring growth habit in barley and wheat. *Mol. Genet. Genomics*. 2005;273:54-65.

Hao M., Luo J., Zhang L., Yuan Z., Yang Y., Wu M. Production of hexaploid triticales by a synthetic hexaploid wheat-rye hybrid method. *Euphytica*. 2013;193:347-357. DOI 10.1007/s10681-013-0930-2.

Kippes N., Debernardi J., Vasquez-Gross H., Akpinar B., Budak H., Kato K., Chao S., Akhunov E., Dubcovsky J. Identification of the *VERNALIZATION 4* gene reveals the origin of spring growth habit in ancient wheats from South Asia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2015;112(39):E5401-E5410. DOI 10.1073/pnas.1514883112.

Kippes N., Zhu J., Chen A., Vanzetti L., Lukaszewski A., Nishida H., Kato K., Dvorak J., Dubcovsky J. Fine mapping and epistatic interactions of the vernalization gene *VRN-D4* in hexaploid wheat. *Mol. Genet. Genomics*. 2014;289:47-62. DOI 10.1007/s00438-013-0788-y.

Košner J., Pánková K. Chromosome substitutions with dominant loci *Vrn-1* and their effect on developmental stages of wheat. *Czech J. Genet. Plant Breed.* 2004;2(40):37-44.

Krolow K.-D. Aneuploidie und Fertilität bei amphidiploiden Weizen-Roggen-Bastarden (*Triticale*). 1. Aneuploidie und Selection auf Fertilität bei oktoploiden Triticale-Formen. *Z. Pflanzenzucht*. 1962; 48(2):177-196.

Krolow K.-D. Aneuploidie und Fertilität bei amphidiploiden Weizen-Roggen-Bastarden (*Triticale*). 2. Aneuploidie und Fertilitäts-Untersuchungen an einer oktoploiden Triticale-Form mit starker Abregulierungstendenz. *Z. Pflanzenzucht*. 1963;49(3):210-242.

Li H., Guo X., Wang C., Ji W. Spontaneous and divergent hexaploid triticales derived from common wheat × rye by complete elimination of D-genome chromosomes. *PLoS One*. 2015;10(3):e0120421. DOI 10.1371/journal.pone.0120421.

Likhenko I.E., Stasyuk A.I., Shcherban' A.B., Zyryanova A.F., Likhenko N.I., Salina E.A. Study of allelic composition of *Vrn-1* and *Ppd-1* genes in early-ripening and middle-early varieties of spring soft wheat in Siberia. *Russ. J. Genet. Appl. Res.* 2015;5(3):198-207. DOI 10.1134/S2079059715030107.

Lukaszewski A.J., Gustafson J.P. Cytogenetics of triticales. *Plant Breed. Rev.* 1987;5:41-93.

Muterko A., Balashova I., Cokram J., Kalrndar R., Sivolap Y. The new wheat vernalization response allele *Vrn-D1s* is caused by DNA transposon insertion in the first intron. *Plant Mol. Biol. Rep.* 2015; 33:294-303. DOI 10.1007/s11105-014-0750-0.

- Muterko A., Kalendar R., Salina E. Novel alleles of the *VERNALIZATION1* genes in wheat are associated with modulation of DNA curvature and flexibility in the promoter region. *BMS Plant Biol.* 2016;16(Suppl.1):9. DOI 10.1186/s12870-015-0691-2.
- Plaschke J., Börner A., Xie D.X., Koebner R.M.D., Schlegel R., Gale M.D. RFLP mapping of genes affecting plant height and growth habit in rye. *Theor. Appl. Genet.* 1993;85:1049-1054.
- Potokina E.K., Koshkin V.A., Alekseeva E.A., Matvienko I.I., Bespalova L.A., Filobok V.A. The combination of the *Ppd* and *Vrn* gene alleles determines the heading time in common wheat varieties. *Russ. J. Genet. Appl. Res.* 2012;2(4):311-318. DOI 10.1134/S2079059712040089.
- Pugsley A.T. A genetic analysis of the spring-winter habit of growth in wheat. *Aust. J. Agric. Res.* 1971;22:21-31.
- Pugsley A.T. Additional genes inhibiting winter habit in wheat. *Euphytica.* 1972;21:547-552.
- Shcherban A., Börner A., Salina E. Effect of *VRN-1* and *PPD-D1* genes on heading time in European bread wheat cultivars. *Plant Breed.* 2015;134(1):49-55. DOI 10.1111/pbr.12223.
- Shcherban A., Efremova T., Salina E. Identification of a new *Vrn-B1* allele using two near-isogenic wheat lines with difference in heading time. *Mol. Breed.* 2012;29:675-685.
- Tyslenko A., Zuev D., Skatova S., Shvidchenko V. Rossica – new stern spring triticale cultivar for field crop in Russia. 2016. Available at: <https://ipi1.ru/images/PDF/2016/73/rossika-novyj-kormovoj-sort.pdf> (in Russian)
- Vettel F.K. Mutationsversuche an Weizen-Roggen-Bastarden. 2. Zytologische Untersuchung und Fertilitats – Bestimmungen an Triticale Rimpau und einigen Mutanten. *Zuchter.* 1960a;30(5):181-189.
- Vettel F.K. Mutationsversuche an Weizen-Roggen-Bastarden (*Triticale*). 3. Mutationsauslösung bei Triticale Meister und Triticale 8324. *Zuchter.* 1960b;30(8):313-329.
- Worland A.J. The influence of flowering time genes on environmental adaptability in European wheats. *Euphytica.* 1996;89:49-57.
- Yan L., Fu D., Li C., Blechl A., Tranquilli G., Bonafede M., Sanchez A., Valarik M., Yasuda S., Dubcovsky J. The wheat and barley vernalization gene *VRN-3* is an orthologue of *FT*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2006;104:19581-19586.
- Yan L., Helguera M., Kato K., Fukuyama S., Sherman J., Dubcovsky J. Allelic variation at the *VRN1* promoter region in polyploidy wheat. *Theor. Appl. Genet.* 2004;109:1677-1686.
- Yan L., Loukoianov A., Tranquilli G., Helguera M., Fahima T., Dubcovsky J. Positional cloning of wheat vernalization gene *VRN1*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2003;100:6263-6268.
- Yoshida T., Nishida H., Zhu J., Nitcher R., Distelfeld A., Akashi Y., Kato K., Dubcovsky J. *Vrn-D4* is a vernalization gene located on the centromeric region of chromosome 5D in hexaploid wheat. *Theor. Appl. Genet.* 2010;120:543-552.

Благодарности. Работа поддержана бюджетным проектом ИЦиГ СО РАН № 0259-2021-0012.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 14.09.2020. После доработки 27.05.2021. Принята к публикации 09.06.2021.