



Создание нового для мягкой пшеницы генотипа – носителя двух локусов мягкозерности эндосперма

А.В. Симонов¹✉, А.К. Чистякова¹, Е.В. Морозова¹, Л.В. Щукина¹, А. Бёрнер², Т.А. Пшеничникова¹

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия

² Институт им. Лейбница генетики растений и исследования возделываемых культур, Гатерслебен, Германия

Технологическое назначение зерна и муки мягкой пшеницы определяется в значительной степени структурой эндосперма зерновки. Ее изменчивость у сортов мягкой пшеницы зависит в основном от множественного аллелизма по одному локусу, *Ha*, в хромосоме 5D, приводящего к непрерывной вариации этого признака. Эндосперм зерна может изменяться от твердозерного стекловидного, пригодного для дрожжевого хлебопечения, до мягкозерного мучнистого, благоприятного для кондитерских и технических целей. Кроме того, на данные признаки, особенно на стекловидность, сильное влияние оказывают условия выращивания. Ранее в хромосому 5A линии 84/98^w был интрогрессирован локус *Ha-Sp* от *Aegilops speltoides* Tausch., который снижает твердозерность и стекловидность эндосперма, подобно доминантному аллелю локуса *Ha*. В данной работе впервые описаны получение и испытание супермягкозерных линий, в генотипе которых объединены гомеоаллельные локусы *Ha-Sp* линии 84/98^w и *Ha* мягкозерного сорта Chinese Spring. Линии выделены из шестого-восьмого поколений самоопыленных гибридов F₂. Они стабильно в полевых и тепличных условиях демонстрируют большую, чем родительские формы, мягкозерность. Эти линии могут быть использованы в селекции сортов пшеницы, для муки из которых не потребуются химические разрыхлители в кондитерском производстве. Возможно также их применение в технических целях для производства биоэтанола. Кроме того, эти линии могут послужить генетической моделью для изучения функциональной активности гомеоаллельных генов в сложных полиплоидных геномах растений.

Ключевые слова: мягкая пшеница; структура эндосперма зерновки; локусы *Ha* и *Ha-Sp*; супермягкозерные линии пшеницы.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Симонов А.В., Чистякова А.К., Морозова Е.В., Щукина Л.В., Бёрнер А., Пшеничникова Т.А. Создание нового для мягкой пшеницы генотипа – носителя двух локусов мягкозерности эндосперма. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(3):341-346. DOI 10.18699/VJ17.251

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Simonov A.V., Chistyakova A.K., Morozova E.V., Shchukina L.V., Börner A., Pshenichnikova T.A. The development of a new bread wheat genotype carrying two loci for endosperm softness. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2017;21(3):341-346. DOI 10.18699/VJ17.251

УДК 633.111.1:631.524.01

Поступила в редакцию 03.10.2016 г.

Принята к публикации 12.01.2017 г.

© АВТОРЫ, 2017

The development of a new bread wheat genotype carrying two loci for endosperm softness

A.V. Simonov¹✉, A.K. Chistyakova¹, E.V. Morozova¹, L.V. Shchukina¹, A. Börner², T.A. Pshenichnikova¹

¹ Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

² Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Gatersleben, Germany

The technological purpose of grain and flour wheat is largely determined by the grains endosperm structure. Its variability among wheat varieties depends mainly on the multiple allelism for a single *Ha* locus on chromosome 5D leading to a continuous variation of the trait. The grain endosperm can vary from hard and vitreous suitable for yeast baking to soft and floury favorable for confectionery and technical purposes. Furthermore, these traits, especially vitreousness, are strongly influenced by the growth conditions. Earlier, the *Ha-Sp* locus was introgressed into chromosome 5A of the bread wheat line 84/98^w from *Aegilops speltoides* Tausch., which reduces endosperm hardness and vitreousness, like the dominant allele of the *Ha* locus. This paper is the first to describe the obtaining and testing of the supersoft lines combining in their genotype the homoeoallelic loci *Ha-Sp* of the line 84/98^w and *Ha* of the soft grain cultivar Chinese Spring. The lines were isolated from 6–8 generations of self-pollinated F₂ hybrids. They consistently exhibit a greater grain softness than the parental forms under both greenhouse and field conditions. These lines can be used in the breeding of wheat cultivars, the flour of which will not require chemical baking powder in the confectionery industry. It is also possible to use them for technical purposes for the production of bioethanol. In addition, these lines may serve as a genetic model for the study of the functional activity of homoeoallelic genes in the complex polyploid genomes of plants.

Key words: bread wheat; grain endosperm structure; *Ha* and *Ha-Sp* loci; supersoft wheat lines.

Технологическое назначение зерна пшеницы определяется мукомольными параметрами, зависящими от структуры эндосперма зерновки. Основная изменчивость структуры эндосперма у мягкой пшеницы – стекловидность/мучнистость и твердозерность/мягкозерность – зависит от аллелей генов *Pina* и *Pinb*, сцепленных в локусе *Ha* в хромосоме 5D (Symes, 1969; Morris, 2002). Синтез с доминантных аллелей этих генов белков пуриноидинов приводит к формированию мягкого мучнистого эндосперма. Таким образом, мука из размолотого зерна состоит из относительно мелких частиц крахмала в белковой оболочке, не доступных дрожжам (Козьмина, 1955). Мутации генов в локусе *Ha* приводят к нарушению синтеза пуриноидинов, вследствие чего крахмальные зерна слипаются в монолитную стеклообразную структуру. При размоле стекловидного зерна мука состоит из относительно крупных осколков незащищенного крахмала, доступного для дрожжей.

У тетраплоидного предка в хромосомах 5A и 5B произошли делеции генов *Pina* и *Pinb* в гомеоаллельных локусах, что вызывает высокую твердозерность у вида твердой пшеницы (Gautier et al., 2000). Селекционный процесс привел к появлению у мягкой пшеницы множества рецессивных аллелей генов *Pina* и *Pinb*, в том числе нуль-аллелей, синтез белка с которых в разной степени нарушен. Среди сортов можно наблюдать непрерывную вариацию этих признаков – от мягкого мучнистого до твердого стекловидного эндосперма, так же, как у твердой пшеницы. Таким образом, изменчивость структуры эндосперма сортов мягкой пшеницы в основном зависит от аллелей одного локуса *Ha* на хромосоме 5D. Кроме того, на данные признаки, особенно на стекловидность, сильное влияние оказывают условия выращивания.

Ранее нами был обнаружен новый локус *Ha-Sp* мягкозерности в хромосоме 5A, интрогрессированный в линию 84/98^w от *Ae. speltoides* Tausch. (Pshenichnikova et al., 2010). Линия получена на основе твердозерного сорта Родина, носителя рецессивного аллеля локуса *Ha* в хромосоме 5D. Интрогрессированный локус *Ha-Sp*, подобно доминантному локусу *Ha*, приводит к формированию зерен с мягким полустекловидным эндоспермом. Поскольку локусы *Ha-Sp* и *Ha* гомеоаллельны, их можно объединить в одном генотипе и изучить совместное действие на структуру зерновки.

Для производства разных мучных изделий требуются зерно и мука с разными технологическими свойствами (Реña, 2002). В производстве качественного дрожжевого хлеба важны высокая твердозерность и стекловидность. Крекеры или белая лапша готовятся из зерна средней твердости и стекловидности. Для кондитерских целей, напротив, имеют значение мягкозерность и мучнистость зерна пшеницы. Обогащение генетического разнообразия пшеницы за счет еще одного гена мягкозерности эндосперма расширяет спектр возможностей целенаправленного технологического использования зерна и муки.

Целью работы стало создание гомозиготных линий с объединенными в одном генотипе локусами мягкозерности *Ha* и *Ha-Sp* и их оценка в различных условиях среды. Для этого была проведена гибридизация мягкозерного сорта Chinese Spring и линии 84/98^w, и в течение ряда

самоопыленных поколений продолжался отбор, сопровождавшийся технологическим анализом. К настоящему времени из шестого-восьмого поколений выделен ряд линий с более мягким относительно родительских форм мучнистым эндоспермом зерновки.

Материалы и методы

Генетический материал. В качестве исходных родительских генотипов использованы интрогрессивная озимая линия 84/98^w из коллекции «Арсенал» (Lapochkina, Yatchevskaya, 1997) и сорт Chinese Spring. Они имеют мягкое зерно со стекловидностью в разных условиях около 50 % и диаметром частиц муки (ДЧМ) от 11 до 15 мкм. Сорт Chinese Spring несет доминантный аллель локуса *Ha* хромосомы 5D, обеспечивающий мягкозерность. Линия 84/98^w унаследовала от реципиентного твердозерного сорта Родина рецессивный аллель локуса *Ha*. Она несет интрогрессированный от *Ae. speltoides* локус мягкозерности *Ha-Sp* в коротком плече хромосомы 5A (Pshenichnikova et al., 2010). О наличии интрогрессии в дистальной области короткого плеча также свидетельствует присутствие субтеломерного повтора *Spelt52* (Salina et al., 2001). Для анализирующего скрещивания использовали твердозерную линию 170/98ⁱ из коллекции «Арсенал», носителя рецессивных аллелей.

Условия проведения эксперимента. Выращивание материала проводили в осенний и весенний периоды вегетации (с октября по январь и с февраля по май соответственно) в условиях гидропонной теплицы ИЦиГ СО РАН с искусственной подсветкой. В качестве субстрата использовали керамзит, а для питания – раствор Кнопа. Гибриды разных поколений высевали семьями по 10 шт. Кроме того, некоторые семьи поздних поколений по 20–100 шт. выращивали на полях ИЦиГ СО РАН (г. Новосибирск). Размножение гибридов F₂ проводили в 2010 г. в земляных теплицах института ИРК (Гатерслебен, Германия).

Методика определения технологических свойств. Мукомольные показатели изучали в соответствии с методиками, принятыми в России для сортоиспытания сортов сельскохозяйственных культур (Методика..., 1988).

Стекловидность зерна оценивали по характеру поперечного среза у каждого растения по отдельности. При этом для достижения максимально возможной точности индивидуальной оценки использовали все зерна, которые давало растение, но не более 100. Этот подход позволяет сделать вывод о гомо- или гетерогенности семей, а также наблюдать динамику изменения признака в поколениях.

Для последующего анализа на твердозерность зерна отдельных гибридных растений ранжировали по стекловидности. Твердозерность определяли на приборе ПСХ-4, для которого требуются пробы зерна по 6 г. Эти пробы состояли из смеси зерен с нескольких растений, разделенных в группы по принципу родства и схожей стекловидности. О твердозерности судят по диаметру частиц муки, полученной при размоле пробы зерна. Чем больше ДЧМ, тем больше твердость зерновок.

Определение упругости (P), растяжимости (L) и силы муки (W) проводили на альвеографе у отобранных гомозиготных семей F₆–F₈ из 50–100 г муки (одна-две повторности соответственно).

Для наглядного графического отображения распределения семей по твердозерности и стекловидности, а также статистических оценок использовали программы MS Excel и Past.

Результаты

Как было установлено ранее моносомным анализом, интрогрессивная линия 84/98^w несет гомеологичный ген *Ha-Sp* от *Ae. speltoides* Tausch. в хромосоме 5A (Pshenichnikova et al., 2010). Поэтому линия имеет мягкое полустекловидное зерно, его стекловидность в разных условиях выращивания составляет 50–70 %, а ДЧМ 11–15 мкм. Реципиентный сорт Родина – твердозерный, имеет стекловидность 85–90 %, ДЧМ более 23 мкм. Типичный образец мягкой пшеницы с активным локусом мягкозерности *Ha* хромосомы 5D – сорт Chinese Spring. Стекловидность его зерновок в различных условиях порядка 50–75 %, а ДЧМ – 11–15 мкм.

На рис. 1 представлены характеристики эндосперма групп растений двух популяций F₂ Chinese Spring × 84/98^w и F₂ 170/98ⁱ × 84/98^w. Первая популяция – потомство от двух мягкозерных генотипов, а вторая – потомство от твердозерной и мягкозерной линий. У гибридов F₂ Chinese Spring × 84/98^w наблюдалась значительная трансгрессия по стекловидности эндосперма. Изменчивость выходила за рамки значений родительских генотипов, ее пределы составили 26.8–92.4 %. Изменчивость второй популяции по стекловидности сосредоточена практически в пределах от 50.1 до 96.9 %.

Стекловидность тесно коррелирует с твердозерностью, что было отмечено на различных образцах мягкой пшеницы. При этом твердозерность меньше зависит и от условий среды (Дундук, Ермакова, 1978). Поэтому в F₂ также был проведен анализ твердозерности с целью выяснить, насколько тесной окажется их корреляция при взаимодействии двух генов. Зерно, объединенное с растений со схожей стекловидностью в группы до навесок по 6 г, было размолото для определения ДЧМ – показателя твердозерности. На рис. 2 показано распределение этих групп растений по ДЧМ и стекловидности. Лимиты изменчивости составили для ДЧМ от 10.17 до 20.23 мкм, а для стекловидности – от 27 до 92 %. Коэффициент корреляции $r = 0.83$. Однако в пределах рангов со схожими значениями ДЧМ наблюдали существенные различия по стекловидности (см. рис. 2). Например, для зерна с ДЧМ 14–15 мкм разброс значений стекловидности был от 45 до 85 %, а для зерна с ДЧМ 12–13 мкм он составляет от 33 до 65 %. Таким образом, среди популяций F₂ Chinese Spring × 84/98^w становится возможным вести отбор растений на меньшие стекловидность и твердозерность, чем у родителей.

Дальнейший отбор в последовательных поколениях сопровождался трудностями, связанными с постоянным расщеплением в семьях от наиболее мягкозерных растений – носителей доминантных аллелей локусов *Ha* и *Ha-Sp*. На рис. 3 приведены данные по структуре эндосперма трех типов семей F₅ в сравнении с родителями. Выщепившиеся твердозерные растения (на рисунке обозначены «+») с высокими стекловидностью и ДЧМ стабильно передавали эти признаки в ряду поколений и более не расщеплялись,

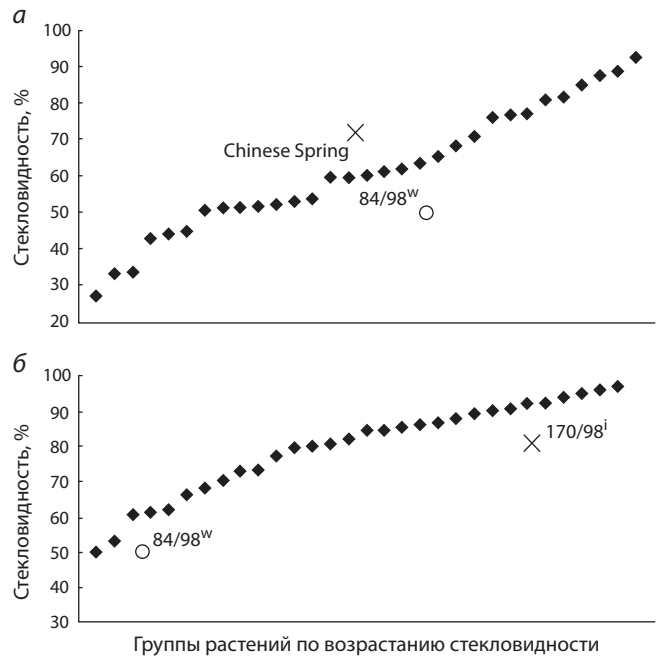


Рис. 1. Ранжирование групп растений двух популяций F₂ Chinese Spring × 84/98^w (а) и F₂ 170/98ⁱ × 84/98^w (б).

Каждая точка соответствует группе растений со схожей стекловидностью.

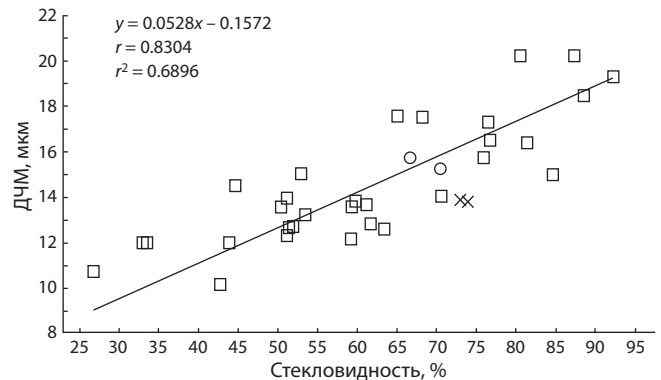


Рис. 2. Распределение групп растений F₂ Chinese Spring × 84/98^w по стекловидности и ДЧМ.

○ – линия 84/98^w; × – Chinese Spring; □ – F₂ CS × 84/98^w.

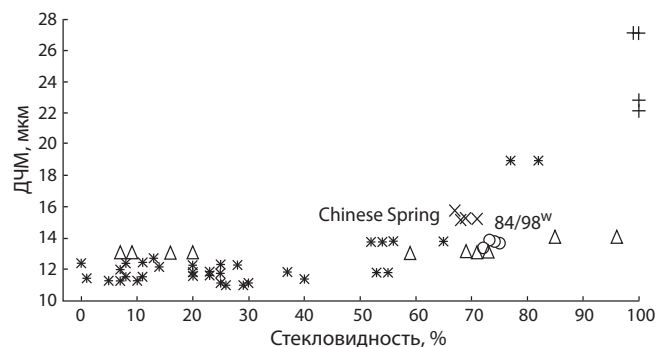


Рис. 3. Относительная изменчивость стекловидности и твердозерности (ДЧМ) внутри семей F₅ Chinese Spring × 84/98^w.

○ – линия 84/98^w; × – Chinese Spring; *, Δ – семьи F₅ CS × 84/98^w.

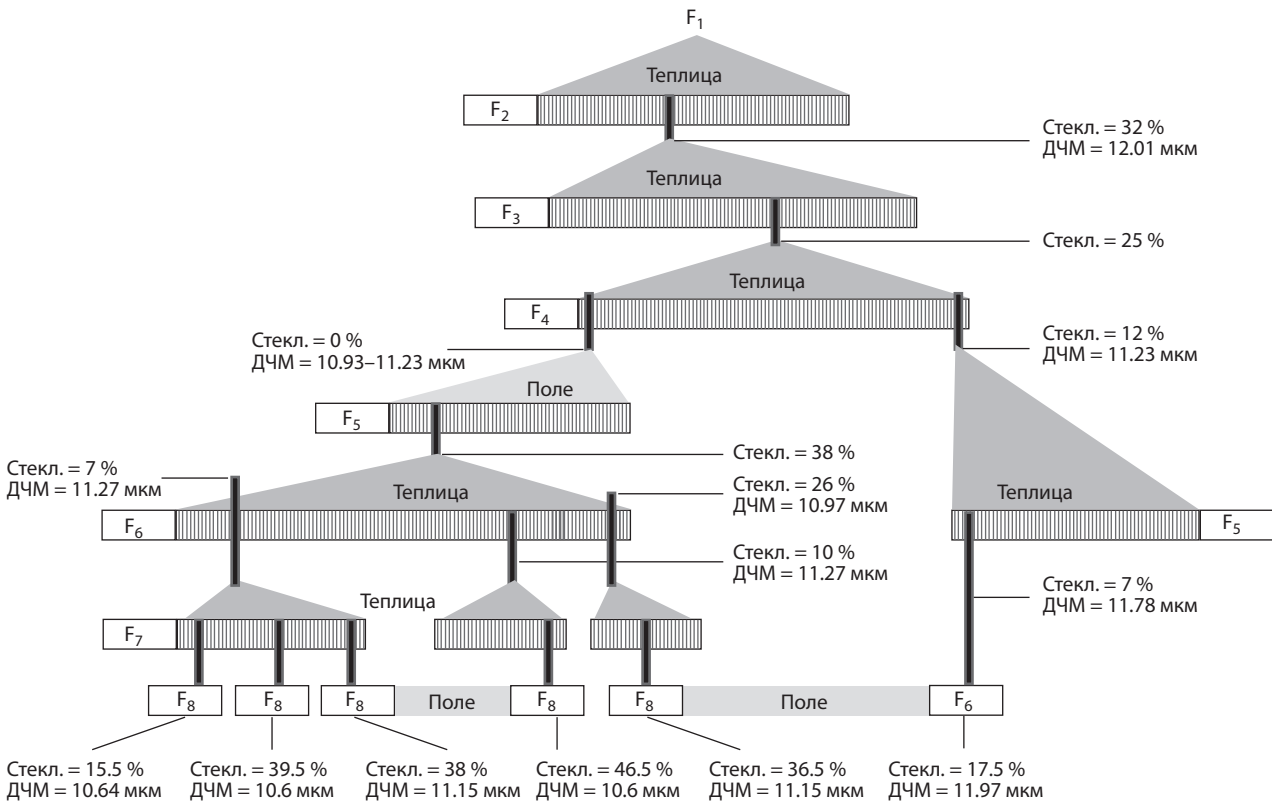


Рис. 4. Генеалогическое древо супермягкозерных линий мягкой пшеницы.

Стекл. – стекловидность; ДЧМ – диаметр частиц муки.

Показатели твердозерности и данные альвеографа у отобранных супермягкозерных семей (полевая вегетация)

Технологический показатель	Линия 84/98 ^{w*}	Chinese Spring	F ₈	F ₈	F ₈	F ₆
Стекловидность, %	50.5	50	15.5	43	37.3	17.5
Диаметр частиц муки, мкм	14.5	14.7	11.5	10.6	11.2	12.00
Сила муки, W	–	52.1	67.0	68.3	76.6	42.2
Упругость теста, P	–	52.8	50.6	56.7	62.4	34.7
Растяжимость теста, L	–	33	55	35	36.5	36
Отношение P/L	–	1.6	0.92	1.62	1.71	0.96

* Тепличный урожай.

будучи гомозиготными носителями рецессивных аллелей. Далее эти растения не отбирали. Вторая группа растений с ДЧМ около 13 мкм на уровне 84/98^w линии обнаруживала большую изменчивость по стекловидности – от 25 до 96 % (обозначены «Δ»). Третья группа (обозначена «*») тоже имела высокую изменчивость по стекловидности, от 0 до 83 %, а значения ДЧМ колебались в пределах 11–19 мкм. Скорее всего, эти семьи произошли от гетеро- и дигетерозигот по генам *Ha* и *Ha-Sp* соответственно. Из второй и третьей групп отбирали семьи с наименьшими показателями стекловидности и твердозерности (рис. 4), в которых вероятность выделения гомозигот была больше.

Потомки наиболее мягкозерных растений в значительной части оказывались озимыми. О затрудненной реком-

бинации интрогрессированной хромосомы с хромосомой 5A пшеницы у гибридов с линией 84/98^w сообщалось в предыдущих работах (Симонов и др., 2009; Pshenichnikova et al., 2010; Симонов, Пшеничникова, 2012). Это сужало поле для отбора. На рис. 4 приведена полная схема отбора супермягкозерных растений, которая показывает, что весь отбор берет начало от одного из 200 первоначально выращенных растений F₂.

К настоящему времени из потомства поздних поколений гибридов мучнистых образцов Chinese Spring × 84/98^w выделены линии с очень мягкозерным мучнистым эндоспермом зерновки, стекловидностью менее 50 % и ДЧМ 10–12 мкм (см. рис. 4). Эти свойства сохранялись у линий в полевых и тепличных условиях. Проведены испытания физических свойств теста у линий F₆–F₈ на альвеографе.

Эти линии имеют очень низкую силу муки: от 42 до 76 ед. альвеографа (таблица). Для кондитерских изделий (песочное печенье, пряники, бисквиты) предпочтительно использование именно такой муки, без применения химических разрыхлителей (Рейна, 2002).

Обсуждение

В настоящее время локус *Ha-Sp* – единственный изученный пример интрогрессии гена мягкозерности эндосперма в мягкую пшеницу от дикого сородича. В нашей работе впервые объединены в одном генотипе два гомеоаллельных гена, определяющих характеристики эндосперма зерновки, и изучен их совместный эффект на мукомольные показатели – стекловидность и ДЧМ. По отдельности гены вызывают формирование зерен с мягким полустекловидным эндоспермом и достаточно низким диаметром частиц муки. Несмотря на то, что доминантный аллель локуса *Ha* обеспечивает мягкозерность, вариабельность по стекловидности может ухудшать технологические свойства муки для кондитерских изделий. Это вызывает необходимость применения химических добавок для достижения высокого потребительского качества кондитерских изделий. Ожидалось, что гибриды линии 84/98^w с мягкозерным образцом пшеницы могут дать более мучнистое и мягкое зерно вследствие взаимодействия двух локусов, *Ha-Sp* и *Ha*. Действительно, если изменчивость стекловидности при моногибридном скрещивании с участием гена локуса *Ha-Sp* находилась в пределах родительских форм, то при дигибридном скрещивании диапазон изменчивости был очень широким. Вследствие взаимодействия двух локусов, *Ha-Sp* и *Ha*, выделены семьи растений со стекловидностью зерна менее 50 %, более мучнистого, чем у родителей. В дальнейшем отбирали только семьи с самой низкой стекловидностью. К шестому-восьмому поколению были выделены линии с узкой вариабельностью как по стекловидности, так и по диаметру частиц муки, существенно отличающиеся от родителей по данным показателям (рис. 5). Это подтверждает присутствие обоих исходных локусов мягкозерности в генотипе линий, которые действуют на проявление признака аддитивно. Как показал технологический анализ зерна линий тепличной и полевой вегетаций, оно стабильно сохраняет эти свойства.

Таким образом, нами получены линии с новыми для мягкой пшеницы свойствами зерна и муки. Муку таких генотипов можно использовать как непосредственно для производства кондитерских изделий, так и в качестве улучшителя кондитерских свойств муки хлебопекарного назначения. Это позволит избежать адаптации сырья в производственном процессе путем внесения различных химических добавок, в частности химических разрыхлителей. В некоторых странах, например в Канаде, зерно с такими показателями представляет отдельный товарный класс (Canadian Grain Commission..., 2015).

Примером использования генетических манипуляций для создания новой злаковой культуры с расширенным кругом конечного технологического назначения зерна и муки служит получение мягкой разновидности пшеницы *T. durum* (Morris, Fuerst, 2013) путем введения локуса мягкозерности эндосперма *Ha* из хромосомы 5D мягкой пшеницы. Это позволяет теперь использовать твердую

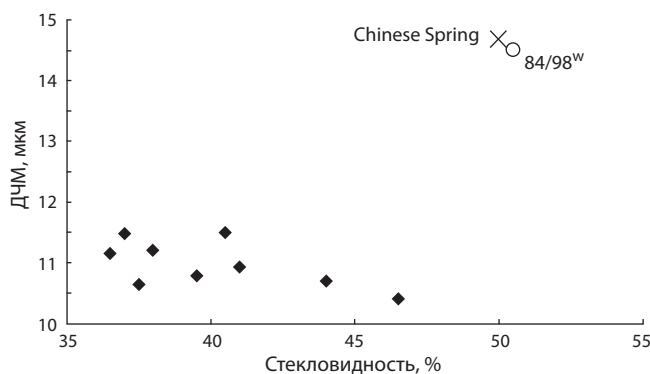


Рис. 5. Изменчивость ДЧМ и стекловидности среди линий F₈ Chinese Spring × 84/98^w в сравнении с родителями.

○ – линия 84/98^w; × – Chinese Spring; ◆ – растения F₈ CS × 84/98^w.

пшеницу для производства не только макаронных изделий, но и различных видов хлеба.

Значительная вариабельность по структуре эндосперма зерновки мягкой пшеницы, которая обнаруживается только у этого вида злаковых, имеет большое значение в различных кулинарных и технических целях. Полученные линии, возможно, могут служить техническим сырьем для производства биоэтанола. В Великобритании, например, для этих целей существует специальное селекционное направление. Оно нацелено на создание современных высокоурожайных сортов пшеницы для дистилляции спиртных напитков и получения биоэтанола (Kindred et al., 2008; David et al., 2015).

Созданный нами генетический материал может быть использован и в фундаментальных исследованиях в качестве модели в экспериментах по изучению функциональной активности гомеоаллельных генов в сложных полиплоидных геномах растений.

Благодарности

Работа выполнялась в рамках государственного задания (проект № 0324-2016-0001).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Дундук И.Г., Ермакова М.Ф. Признак твердозерности как показатель качества пшеницы. Сиб. вестн. с.-х. науки. 1978;1:15-19.
Козьмина Н.П. Зерноведение. М.: Заготиздат, 1955.
Методика Государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур. М.: 1988.
Симонов А.В., Пшеничникова Т.А. Хромосомная локализация гена спельтоидности, интрогрессированного в мягкую пшеницу от *Aegilops speltoides* Tausch., и его взаимодействие с геном *Triticum spelta* L. Генетика. 2012;48(11):1306-1313.
Симонов А.В., Пшеничникова Т.А., Лапочкина И.Ф. Генетический анализ признаков, интрогрессированных от *Aegilops speltoides* Tausch. в мягкую пшеницу и определяемых генами хромосомы 5A. Генетика. 2009;7(45):913-919.
Canadian Grain Commission. Official Grain Grading Guide, Wheat, 2015. Available at <http://www.grainscanada.gc.ca/index-eng.htm>.

- David I.G., Green D.I.G., Agu R.C., Bringham T.A., Brosnan J.M., Jack F.R., Walker G.M. Maximizing alcohol yields from wheat and maize and their co-products for distilling or bioethanol production. *J. Inst. Brew.* 2015;121:332-337. DOI 10.1002/jib.236.
- Gautier M.-F., Cosson P., Guirao A., Alary R., Joudrier P. Puroindoline genes are highly conserved in diploid ancestor wheats and related species but absent in tetraploid *Triticum* species. *Plant Sci.* 2000; 153:81-91.
- Kindred D.R., Verhoeven T.M.O., Weightman R.M., Swanston J.S., Agu R.C., Brosnan J.M., Sylvester-Bradley R. Effects of variety and fertiliser nitrogen on alcohol yield, grain yield, starch and protein content, and protein composition of winter wheat. *J. Cereal Sci.* 2008;48:46-57. DOI 10.1016/j.jcs.2007.07.010.
- Lapochkina I.F., Yatchevskaya G.L. Pollen irradiation method in distant wheat hybridization. *Ann. Wheat Newslett.* 1997;43:193-195.
- Morris C.F. Puroindolines: the molecular genetic basis of wheat grain hardness. *Plant Mol. Biol.* 2002;48:633-647.
- Morris C.F., Fuerst E.P. Quality characteristics of soft kernel durum; a new cereal crop. *Advances in Wheat Genetics: From Genome to Field.* Eds. Y. Ogihara, S. Takumi, H. Handa. Tokyo: Springer, 2013;275-278.
- Peña R.L. Wheat for bread and other foods. *Bread Wheat.* Eds. B.C. Curtis, S. Rajaram, H. Gómez Macpherson. Improvement and Production FAO. 2002. <http://www.fao.org/docrep/006/Y4011e/y4011e0w.htm#bm32>.
- Pshenichnikova T.A., Simonov A.V., Ermakova M.F., Chistyakova A.K., Shchukina L.V., Morozova E.V. The effects on grain endosperm structure of an introgression from *Aegilops speltoides* Tausch. into chromosome 5A of bread wheat. *Euphytica.* 2010;175(3):315-322.
- Salina E.A., Adonina I.G., Efremova T.T., Lapochkina I.F., Pshenichnikova T.A. The genome-specific subtelomeric repeats for study of introgressive lines *T. aestivum* × *Ae. speltoides*. *EWAC Newslett.* 2001;161-164.
- Symes K.J. Influence of a gene causing hardness on the milling and baking quality of two wheats. *Aust. J. Agric. Res.* 1969;20(6):971-979.