

Генетическое разнообразие и селекционная ценность синтетической гексаплоидной пшеницы, привлеченной в коллекцию ВИР

А.Г. Хакимова, Н.К. Губарева, [В.А. Кошкин](#), О.П. Митрофанова 

Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР), Санкт-Петербург, Россия

 e-mail: o.mitrofanova@vir.nw.ru

Для успешного развития селекции пшеницы в России необходим генетически разнообразный и хорошо охарактеризованный исходный материал, в основном сохраняемый в коллекции Всероссийского института генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР). С целью пополнения коллекции было изучено 36 образцов синтетической гексаплоидной пшеницы (СГП), созданных в CIMMYT путем скрещивания *Triticum durum* с *Aegilops tauschii*. Наше исследование было направлено на изучение линий (образцов) СГП по комплексу морфологических и хозяйственно ценных признаков в условиях Северо-Западного региона России (30° в. д., 59° с. ш.); оценку реакции СГП на фотопериод; определение генетической гетерогенности образцов СГП и сходства между ними с использованием глиадинов как биохимических маркеров. Результаты показали, что изменчивость различных признаков СГП укладывается в рамки рода *Triticum*, СГП можно классифицировать как слабо окультуренные формы. Их отличительная черта, ценная для селекции пшеницы, – высокая масса 1000 зерен (до 60.6 г). Этот признак характеризовался низкой степенью изменчивости и слабой корреляцией с другими признаками. Реакция растений пшеницы на продолжительность светового дня имеет решающее значение для их перехода от вегетативного развития к репродуктивному. Исследованные СГП отличались от мягкой пшеницы и друг от друга реакцией на короткий день и продолжительностью фазы всходы–колошение на длинном дне. Задержка развития растений в условиях короткого фотопериода составляла от 5.4 до 53.8 дня, на длинном дне продолжительность фазы всходы–колошение варьировала от 39.5 до 53.9 дня. Обсуждается возможная генетическая основа выявленных различий. Для оценки разнообразия СГП нами использованы также глиадины как информативные биохимические маркеры. Показано, что 21 образец был мономорфным, остальные – гетерогенными. У изученных СГП определено 44 различных биотипа, из которых 36 были уникальными. Взаимосвязи между биотипами продемонстрированы в кластерном анализе. Следует отметить, что 13 СГП были нестабильными. У каждого такого образца некоторые растения отличались от других комплексом морфологических признаков, реакцией на фотопериод и спектрами глиадина. Возможно, нестабильность образцов – результат перестройки генома у СГП. Образцы СГП и выщипавшиеся из них формы рассмотрены в качестве источников новой генетической изменчивости для улучшения мягкой пшеницы.

Ключевые слова: пшенично-эгилопсные амфидиплоиды; полевое изучение; реакция на фотопериод; электрофоретический анализ глиадина; генетическое разнообразие; классификация; расширение генофонда пшеницы.

Для цитирования: Хакимова А.Г., Губарева Н.К., Кошкин В.А., Митрофанова О.П. Генетическое разнообразие и селекционная ценность синтетической гексаплоидной пшеницы, привлеченной в коллекцию ВИР. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2019;23(6):738-745. DOI 10.18699/VJ19.548

Genetic diversity and breeding value of synthetic hexaploid wheat introduced into the VIR collection

A.G. Khakimova, N.K. Gubareva, [V.A. Koshkin](#), O.P. Mitrofanova 

Federal Research Center the N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), St. Petersburg, Russia

 e-mail: o.mitrofanova@vir.nw.ru

For the successful development of wheat breeding in Russia, a genetically diverse and well-characterized starting material, mainly stored at the VIR collection, is needed. To replenish the collection, 36 lines (accessions) of synthetic hexaploid wheat (SHWs) developed at CIMMYT by crossing *Triticum durum* with *Aegilops tauschii* were studied. Our research was aimed at studying the SHWs using a complex of morphological and economically valuable traits in the environments of European Russia's northwestern part (E30°, N59°), evaluating the reaction of the SHWs to a photoperiod and determining their genetic heterogeneity and similarities by gliadins as biochemical markers. The results showed that the variability of different traits for SHWs fits into the framework of the genus *Triticum*, and so SHWs can be classified as poorly domesticated forms. Their distinctive feature, valuable for wheat breeding, is a large weight of a thousand grains (up to 60.6 g). This trait was characterized by a low degree of variability and a low correlation with other traits. The reaction of wheat plants to the length of the day is crucial for their transition from vegetative to re-

productive development. The SHWs studied differed from common wheat and one another by responses to the short day and by the length of the 'emergence-heading' phase if they grew under the conditions of a long day. The delay in the development of plants with a short photoperiod ranged from 5.4 to 53.8 days. On a long day, the duration of the 'emergence-heading' phase varied from 39.5 to 53.9 days. A possible genetic basis for the differences identified is discussed. To assess the diversity of SHWs, we also used gliadin proteins as informative biochemical markers. It was revealed that 21 SHWs were homogeneous, and the rest, heterogeneous. Forty-four different biotypes were found for the SHWs studied, from which 36 were unique. Relationships between biotypes have been demonstrated using cluster analysis. It should be noted that 13 SHWs were unstable. In each of them, some plants differed from the others in terms of a complex of morphological characters, reaction to a photoperiod, and gliadin patterns. It is possible that the instability of accessions is the result of genome rearrangement in SHWs. SHW accessions and the forms isolated from them are considered as sources of new genetic variability to improve common wheat.

Key words: wheat-aegilops amphidiploids; field study; reaction to photoperiod; electrophoretic analysis of gliadin; genetic diversity; classification; enhancement of the wheat germplasm.

For citation: Khakimova A.G., Gubareva N.K., Koshkin V.A., Mitrofanova O.P. Genetic diversity and breeding value of synthetic hexaploid wheat introduced into the VIR collection. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii* = *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2019;23(6):738-745. DOI 10.18699/VJ19.548 (in Russian)

Введение

Синтетическая гексаплоидная пшеница (СГП) – искусственно созданные амфидиплоиды ($2n = 6x = 42$, ВВААД) с тем же геномным составом, что и у мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), но отличающиеся от нее бóльшим числом аллелей генов благодаря использованию в скрещиваниях различных представителей тетраплоидных пшениц ($2n = 4x = 28$, ВВАА) рода *Triticum* L. и вида *Aegilops tauschii* Coss. ($2n = 2x = 14$, DD) (Ogbonnaya et al., 2013). Первые формы синтетической пшеницы были получены в 1940-е годы в процессе выяснения степени родства геномов мягкой пшеницы (Kihara, 1944; McFadden, Sears, 1946). Но лишь спустя несколько десятилетий появились статьи, указывающие на достоинства вида *Ae. tauschii* как полезного источника новых генов для улучшения возделываемой пшеницы (Gill et al., 1986). В настоящее время в мире известно свыше 1.5 тыс. образцов СГП, для которых материнскими формами были не только современные сорта твердой пшеницы *T. durum* Desf., но и образцы дикой двузернянки *T. dicoccoides* (Koern. ex Aschers. et Graebn.) Schweinf., культурной полбы (*T. dicoccum* Schuebl.), а также пшеницы карталинской (*T. persicum* Vav.), а донорами пыльцы – примерно 900 образцов *Ae. tauschii* различного географического происхождения (Ogbonnaya et al., 2013). Преобладающая часть всей этой работы выполнена А. Муџеб-Казии с коллегами (1995, 1996) в CIMMYT (The International Maize and Wheat Improvement Center, Мексика). По результатам изучения 521 образца СГП сформированы наборы Elite 1 из 95 образцов, отобранных в основном по агрономическим признакам (Муџеб-Казии et al., 2000), и Elite 2 – из 33 образцов, характеризующихся устойчивостью к различным болезням (Муџеб-Казии, Delgado, 2001). Доступность этого материала для широкого круга исследователей разных стран стимулировала как создание новых СГП, так и передачу их генетического материала в возделываемые пшеницы Австралии (van Ginkel, Ogbonnaya, 2007), Китая (Yang et al., 2009), Индии, Пакистана и других стран мира (Шаманин и др., 2018; Li et al., 2018).

Для расширения возможностей использования СГП в российской селекции нами были привлечены в коллекцию генетических ресурсов растений Всероссийского института генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова

(ВИР) линии (образцы), созданные в CIMMYT. Включение в коллекцию любого нового материала предполагает его морфологическое описание и комплексную оценку по хозяйственно полезным признакам с целью ботанической идентификации образцов и раскрытия их потенциала для селекционного использования. Цель настоящего исследования – изучение образцов СГП по комплексу морфологических и хозяйственно ценных признаков в условиях Северо-Западного региона Российской Федерации, оценка их реакции на фотопериод, определение генетической гетерогенности образцов СГП и сходства между ними с использованием глиадинов в качестве биохимических маркеров.

Материалы и методы

Материалом для исследований послужили 36 образцов СГП из списка Elite 1, полученные в коллекцию пшеницы ВИР в 2006 г. из Wheat Genetic and Genomic Resources Center at Kansas State University (США). В создании этих СГП участвовали 19 различных гибридных форм и сортов *T. durum* и 31 образец *Ae. tauschii* (Приложение 1)¹.

Полевое изучение образцов СГП проводили в яровом посеве (карантинный питомник, г. Павловск, 2007 г. и опытный участок ВИР, г. Пушкин, 2008 г.; 30° в. д., 59° с. ш.). Сроки посева и агротехника – общепринятые для зоны. Посев, фенологические наблюдения и оценку элементов структуры продуктивности образцов осуществляли в соответствии с Методическими указаниями ВИР (Мережко и др., 1999). Использовали также шкалы Широкого унифицированного классификатора СЭВ рода *Triticum* L. (1989) для описания образцов в системе этого рода. Для оценки высоты растений и компонентов продуктивности отбирали по 10 растений каждого образца. Стандартом служил сорт Ленинградка (к-47882, Россия, Ленинградская область).

В вегетационном опыте изучали фотопериодическую чувствительность (ФПЧ) образцов СГП. В качестве стандартов использовали ультраскороспелый сорт Фотон (к-55696, Россия, Краснодарский край), слабо реагирующий на короткий день, и среднеспелый Ленинградка, задерживающий развитие на коротком дне на две-три

¹ Приложения 1–4 см. по адресу:

<http://www.bionet.nsc.ru/vogis/download/pict-2019-23/appx15.pdf>

недели. Растения выращивали на дерново-подзолистой почве в пластиковых пятилитровых сосудах. В одном варианте опыта все сосуды с растениями находились в условиях естественного длинного дня (от 17 ч 30 мин до 18 ч 52 мин), в другом – короткого (12 ч) светового дня (фотопериода). Короткий день создавали, закатывая вагонетки с вегетационными сосудами в светонепроницаемый павильон, в котором они находились с 20 ч вечера до 8 ч утра. Вагонетки с растениями в условиях естественного длинного дня на этот период помещали в стеклянный павильон. У растений пшеницы определяли продолжительность периода всходы–колошение (дни) в условиях длинного (T_1) и короткого (T_2) дней. ФПЧ вычисляли по величине задержки колошения на коротком дне по сравнению с естественным длинным днем (T_2-T_1) и по коэффициенту ФПЧ ($K_{фпч} = T_2/T_1$).

Для электрофоретического анализа запасного белка глиаина в 2009 г. на поле ВИР (Пушкин) были высеяны зерновки отдельных колосьев урожая 2008 г. от каждого из 36 образцов СГП. Полученные из них растения оценивали на однородность по морфологическим признакам, и у растений каждого морфологического типа изучали глиадин 2–11 зерновок.

Глиадин экстрагировали из отдельных зерновок раствором 2 М мочевины в течение 10–12 ч. Электрофоретический анализ глиаина в пластинах 6.5 % ПААГ (буфер 0.013 М уксусная кислота) проводили по методике, принятой в ВИР. Идентификацию компонентов и запись белковых формул выполняли в соответствии с эталонным спектром (Идентификация сортов..., 2000). Стандартом для оценки качества разделения белков и идентификации компонентов служил глиадин сорта Мироновская 808 (к-43920; СССР, Украинская ССР). Белковые формулы глиаина всей совокупности изученных зерновок 36 образцов СГП опубликованы ранее (Хакимова и др., 2018). Растения с разными типами спектра глиаина у образца рассматривали как биотипы, их обозначали тем же номером каталога, дополнительно указывая номер биотипа, например к-65490_1 и к-65490_2.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программного пакета Statistica 12. Для оценки взаимосвязей между биотипами образцов СГП по сходству электрофоретических спектров глиаина применяли кластерный анализ. Степень сходства между электрофоретическими спектрами всех возможных пар биотипов оценивали показателем подобия Жаккара. Расчет матрицы, в которой наличие компонента кодировали цифрой 1, отсутствие – 0, кластерный анализ (алгоритм UPGMA), построение фенограмм кластеризации осуществляли с помощью программного обеспечения DARwin 6.0.

Результаты

Образцы СГП представляют род *Aegilotriticum* P. Fourm., относящийся к трибе Triticeae Dum., семейству Poaceae Varnh. (UniProt, 2019). Отличительными морфологическими признаками образцов были наличие веретеновидного полустистого или остистого колоса, имеющего светло-коричневую или серо-коричневую окраску, в разной степени ломкий стержень, жесткие колосковые чешуи и трудный обмолот. Характеристики каждого из 36 образцов СГП

по морфологическим признакам растения и компонентам продуктивности колоса приведены в Каталоге мировой коллекции ВИР, вып. 870 (Хакимова и др., 2018). Поскольку система рода *Aegilotriticum* не разработана, положение каждого изученного образца СГП дано в системе рода *Triticum* L. (Приложение 2). По признаку «высота растения» образцы входили в три группы: полукарлики, среднерослые и высокорослые, в двух последних группах выделены подгруппы. Независимо от этого деления образцы имели преимущественно средний по размеру колос, лишь у пяти образцов колос был длинным. Число колосков у СГП не выходило за пределы классов «очень малое» и «малое», а число зерен в колосе довольно широко варьировало: от очень малого до большого. Такое варьирование этого показателя могло быть связано с различиями растений по фертильности. Масса зерна с главного колоса у 11.4 % линий была очень малой, у 65.7 % – в пределах 0.9–1.4 г, т. е. малой, у 22.9 % – средней (от 1.5 до 2.6 г). Напротив, масса 1000 зерен у 58.3 % образцов была большой и очень большой. В целом на основании полученных характеристик можно было заключить, что выявленное разнообразие образцов рода *Aegilotriticum* укладывается в рамки *Triticum* L.; образцы можно классифицировать как слабо окультуренные формы.

Наряду со степенью выраженности признаков у образцов СГП были изучены уровень их варьирования под влиянием условий внешней среды и взаимосвязи между признаками, для того чтобы прогнозировать результативность отбора по ним. Изучение изменчивости признаков показало, что наиболее варьирующими по результатам двухлетнего исследования в Павловске в 2007 г. и Пушкине в 2008 г. были признаки «масса зерна с главного колоса или одного растения», «число продуктивных стеблей» и «число зерен в колосе» (табл. 1). Напротив, наиболее однородной была выборка образцов СГП по признакам «продолжительность периода всходы–колошение», «масса 1000 зерен» и «длина колоса». Коэффициент вариации по признаку «высота растения» составил 16.0 % (Пушкин, 2008) и 18.6 % (Павловск, 2007).

Рассчитанные по средним значениям признаков парные корреляции продемонстрировали сходство структуры их сопряженной изменчивости (Приложение 3). Независимо от места и года выращивания образцов СГП, статистически значимые ($p < 0.05$) связи признаков сохранялись между высотой растения и длиной колоса ($r = 0.41_{Пав., 2007}$ и $r = 0.48_{Пуш., 2008}$), числом зерен в колосе ($r = 0.55_{Пав., 2007}$ и $r = 0.61_{Пуш., 2008}$), массой зерна с растения ($r = 0.55_{Пав., 2007}$) или колоса ($r = 0.59_{Пуш., 2008}$), числом продуктивных стеблей ($r = 0.53_{Пав., 2007}$ и $r = 0.44_{Пуш., 2008}$), а также массой зерна с растения или колоса и числом продуктивных стеблей ($r = 0.77_{Пав., 2007}$ и $r = 0.45_{Пуш., 2008}$ соответственно), числом зерен в колосе ($r = 0.49_{Пав., 2007}$ и $r = 0.92_{Пуш., 2008}$ соответственно). Такая сопряженная изменчивость признаков может быть обусловлена генетической гетерогенностью образцов и их однотипной реакцией на изменение условий внешней среды. Практически независимо от других признаков варьировали длина колоса и масса 1000 зерен.

Высокие значения признака «масса 1000 зерен», его низкая степень изменчивости и слабая взаимосвязь с другими признаками указывают на образцы СГП как

Table 1. Parameters of 35 SHW accessions grown in the Northwestern region of Russia*

Traits	Pavlovsk, 2007			Pushkin, 2008		
	Xcp ± s**	lim	CV, %	Xcp ± s	lim	CV, %
Height, cm	88.9 ± 2.8	56–126.3	18.6	96.3 ± 2.6	70.9–128.1	16.0
Spike length, cm	9.2 ± 0.2	5.6–11.5	13.8	9.5 ± 0.2	8.1–12.2	10.3
Number of grains per spike	20.7 ± 1.1	6.8–38.0	30.1	23.3 ± 1.1	9.7–38.8	28.2
Grain weight in the main spike or a single plant, g	(5.2 ± 0.7)	(0.6–15.5)	(81.9)	1.2 ± 0.1	0.4–2.0	28.7
1000 grain weight, g	50.4 ± 1.0	35.0–58.0	11.3	51.6 ± 0.8	41.3–60.6	9.7
Number of productive stems	5.2 ± 0.3	1.5–10.8	39.8	4.0 ± 0.3	1.4–8.7	37.5
Duration of the emergence–heading interval, days	58.4 ± 0.8	48–71	8.0	49.3 ± 0.4	44–55	4.3

* Accession k-65488 was not examined. ** Xmean, mean value; s, error of the mean; lim, limits of character variation; CV, coefficient of variation.

Table 2. The SHW accessions shown to be sources of high 1000 grain weight in a two-year field study in the Northwestern region of Russia

VIR accession number	Locality-year	Plant height, cm	Number of productive stems	Spike length, cm	Number of grains per spike	1000 grain weight, g
65501	Pushkin-2008	96.4	3.4	9.3	22.4	51.5
	Pavlovsk-2007	86.3	5.3	9.1	23	57
65503	Pushkin-2008	119.0	4.2	9.6	22.3	54
	Pavlovsk-2007	101.0	8.3	9.4	25	53.5
65505	Pushkin-2008	110.5	4.3	9.9	26.1	60.6
	Pavlovsk-2007	88.0	4.3	9.6	21.3	50
65506	Pushkin-2008	104.6	6.2	9.7	28.9	53
	Pavlovsk-2007	93.0	9.0	10.2	27.5	56.3
65507	Pushkin-2008	86.7	1.4	9.1	16.6	53.7
	Pavlovsk-2007	101.0	8.0	9.9	18.7	55
65513	Pushkin-2008	73.5	5.0	8.7	25	55
	Pavlovsk-2007	77.5	5.5	10	22.5	58
65514	Pushkin-2008	88.7	3.3	9.6	28.3	46.9
	Pavlovsk-2007	74.3	2.8	8.6	22.3	46

на ценные генетические источники. Некоторые из них по результатам двухлетнего изучения перечислены в табл. 2. В литературе имеются сведения о возможности увеличения массы 1000 зерен у сортов мягкой пшеницы путем скрещивания их с образцами СГП (del Blanco et al., 2001). О высокой массе 1000 зерен (более 60 г), в том числе образцов, получивших номера каталога к-65485, к-65488, к-65492, к-65507 и к-65509, сообщали и А. Gul Kazi с коллегами (2012). Коэффициенты сходства между образцами, рассчитанные ими при сравнении генотипов по RAPD- и SSR-маркерам, варьировали от 0.693 до 0.889, что свидетельствовало в пользу генетических различий образцов. В транскриптомном анализе продемонстрировано, что различия между СГП и мягкой пшеницей по массе и размеру зерновки со второго по пятнадцатый день после опыления сопряжены с разной скоростью их развития и уровнем экспрессии генов, контролирующих метаболизм сахаров (Yan et al., 2018).

Следует отметить, что среди растений 13 из 36 образцов, выращенных из зерновок отдельных колосьев, а именно у к-65487, к-65496, к-65498, к-65501, к-65506, к-65508, к-65509, к-65510, к-65511, к-65514 и к-65518 (посев 2009 г.), были выявлены растения, отличающиеся от других по морфологическим признакам и скорости развития. Эти растения были на 10–15 см выше остальных, более позднеспелыми, безостыми, имели более светлую окраску колоса и большее сходство с мягкой пшеницей. Группа растений этих образцов была условно названа «выщипившиеся СГП». После размножения этих растений на опытном поле ВИР (Пушкин, 2011 г.) с целью сравнения полученных линий с типичными растениями образцов изучали реакцию некоторых из них на фотопериод, а также глиадин.

Результаты изучения в вегетационном опыте реакции на фотопериод 20 образцов СГП, трех выщипившихся форм и двух сортов-стандартов показаны в табл. 3. В условиях

Table 3. The duration of the emergence–heading interval and the photoperiodic sensitivity coefficient of SHW accessions grown under long- and short-day conditions (Pushkin, 2011, greenhouse experiment)

VIR accession	Emergence–heading interval		T_2-T_1	K_{PHS} (T_2/T_1)
	T_1	T_2		
k-55696, Foton	32.3±0.21	34.7±0.21	2.4	1.07
k-47882, Leningradka	40.1±0.10	58.5±0.69	18.4	1.46
k-65484	47.1±2.48	63.5±1.13	16.4	1.35
k-65485	45.8±0.88	58.8±0.44	13	1.28
k-65487	46.0±1.76	64.9±1.04	18.9	1.41
k-65487a	41.6±0.96	51.6±2.12	10	1.24
k-65488	45.9±0.56	63.8±1.63	17.9	1.39
k-65489	47.9±0.77	63.6±0.44	15.7	1.33
k-65490	43.0±0.00	60.0	17.0	1.40
k-65492	46.6±0.16	57.8±0.65	11.2	1.24
k-65496	48.1±0.28	59.9±0.65	11.8	1.25
k-65498	45.1±0.46	69.9±0.93	24.8	1.55
k-65500	43.6±0.31	49.0±0.33	5.4	1.12
k-65501	48.4±1.17	68.5±3.48	20.1	1.42
k-65502	45.1±0.56	90.4±2.15	45.3	2.0
k-65503	43.9±0.35	97.7±0.96	53.8	2.23
k-65506	47.0±0.58	62.8±2.46	15.8	1.34
k-65513	39.5±0.27	50.9±0.91	11.4	1.29
k-65513a	46.7±2.06	66.0±2.39	19.3	1.41
k-65514	47.2±0.13	64.0±0.90	16.8	1.36
k-65515	43.7±1.65	61.5±2.30	17.8	1.41
k-65516	42.1±0.41	50.7±1.12	8.6	1.20
k-65517	48.1±0.69	61.9±0.98	13.8	1.29
k-65518	43.3±1.24	86.0±2.29	42.7	1.97
k-65518a	53.9±2.57	83.7±4.51	29.8	1.55

Notes: T_1 and T_2 are durations of emergence–heading interval in plants grown at the natural long-daylight and at the short 12-h daylight, respectively. T_2-T_1 is the delay in plant heading at the short day as compared to the long day. $K_{PHS} = T_2/T_1$ is the photoperiodic sensitivity coefficient.

длинного дня продолжительность периода всходы–колошение у них варьировала от 39.5 до 53.9 дня, у сортов-стандартов Фотон и Ленинградка составила 32 и 40 дней соответственно. Продолжительность этого периода на коротком дне изменялась от 49.0 до 97.7 дня, у Фотона составила 34, у Ленинградки – 58.5 дня. Коэффициент ФПЧ у образцов и линий СГП изменялся от 1.12 до 2.23: Фотон – 1.07 и Ленинградка – 1.46.

На коротком дне развитие растений СГП задерживалось в разной степени: от 5.4 до 53.8 дня. Наиболее сильную реакцию на короткий день проявили образцы к-65502,

к-65503, к-65518 и выщепившаяся форма к-65518a. Задержка колошения у них составила от 29.8 до 53.8 дня, при этом на длинном дне образцы выколашивались на 3–5 дней, а выщепившаяся форма на 22 дня позже сорта Ленинградка. Наименее чувствительными к короткому фотопериоду были сорт-стандарт Фотон, образцы к-65500, к-65513, к-65516 и выщепившаяся форма к-65487a (задержка колошения на 5–11 дней). На длинном дне все эти образцы выколашивались примерно в те же сроки, что и сорт Ленинградка, а на коротком – быстрее его на 7–8 дней. Остальные образцы и линии существенно не различались между собой. Следует отметить, что характер реакций выщепившихся форм на изменение продолжительности светового дня был разным. По сравнению с исходными образцами у к-65513a увеличилась продолжительность периода всходы–колошение и на длинном, и на коротком дне; напротив, у к-65487a она уменьшилась, а у к-65518a период всходы–колошение увеличился на длинном дне и практически не изменился на коротком.

Вегетационный опыт показал, что и образцы СГП, и выщепившиеся из них формы отличаются от сортов-стандартов и различаются между собой по продолжительности периода всходы–колошение на длинном дне и реакцией на короткий день. Возможно, это обусловлено генетическими различиями СГП и отличием их от мягкой пшеницы, прежде всего по аллелям гомеологичных генов *Ppd* (Response to Photoperiod).

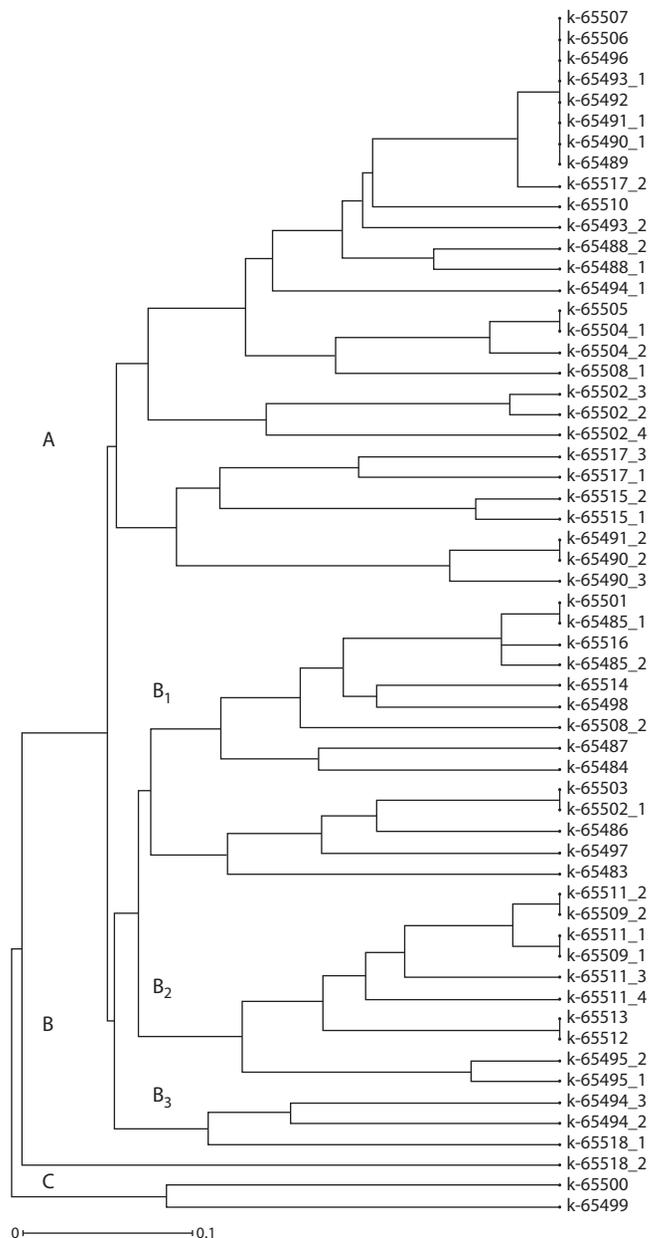
По данным L. Huang с коллегами (2012), образцы *Ae. tauschii* чувствительны к фотопериоду и характеризуются разной скоростью развития. Они имеют три гаплотипа (I–III), различающихся между собой по наличию–отсутствию делеций размером в 24 и 15 п. о., расположенных выше кодирующего участка гена *Ppd-D1*. Гаплотип I выявлен у образцов *ssp. tauschii*; а гаплотип III – у *ssp. strangulata*. В подтверждение тому, что представители *ssp. strangulata* были донорами генома D мягкой пшеницы, свидетельствует наличие у чувствительных к фотопериоду форм мягкой пшеницы гаплотипа III, но с дополнительной делецией 16 п. о. в экзоне 8. У нечувствительных к фотопериоду форм мягкой пшеницы выявлена делеция размером в 2089 п. о. выше кодирующего участка этого гена, какой нет у *Ae. tauschii* (Beales et al., 2007). Кроме того, в хромосомах 2A и 2B мягкой пшеницы показано присутствие гомеологичных генов *Ppd-A1a* с делецией в 1085 п. о. и *Ppd-B1a* с инсерцией в 308 п. о. или увеличенным числом копий (2–4) гена на хромосому, все эти изменения также определяют нечувствительность мягкой пшеницы к фотопериоду (Diaz et al., 2012; Nishida et al., 2013). В отличие от мягкой пшеницы формы *T. durum*, не чувствительные к фотопериоду, имеют ген *Ppd-A1* с делециями размером в 1027 или 1117 п. о., а мутаций гена *Ppd-B1*, связанных с нечувствительностью к фотопериоду, до сих пор не обнаружено (Wilhelm et al., 2009). Таким образом, образцы СГП, содержащие генетический материал твердой пшеницы и *Ae. tauschii*, являются источниками новых для мягкой пшеницы аллелей генов *Ppd*, которые можно использовать в селекции при создании сортов с разной продолжительностью фаз онтогенеза.

Для оценки степени гетерогенности и сходства образцов СГП, регистрации их разнообразия проведен электрофо-

ретический анализ запасного белка зерновки глиаина. В наиболее полном виде суммарный электрофоретический спектр этого белка содержал следующие компоненты: α 23456₁6₂7₁7₂, β 12₂3₁3₂3₃4₁4₂5₁5₂, γ 2₁2₂2₃3₄4₂5, ω 23₂3₃4₁4₂4₃5₁5₂6₁6₂6₃7₁7₂8₁8₂9₁9₂9₃10₁10₂. Разнообразие по спектрам было обусловлено как наличием–отсутствием компонентов в α -, β -, γ - и ω -зонах, так и варьированием их интенсивности.

Сравнение электрофоретических спектров глиаина отдельных зерновок у каждого из 36 образцов СГП показало, что 21 образец был мономорфным, остальные – гетерогенными. Среди гетерогенных образцов десять имели по два варианта спектров глиаина, или биотипа; образцы к-65490, к-65494 и к-65517 – по три биотипа, а к-65502 и к-65511 – по четыре биотипа. У некоторых образцов и биотипов СГП были одинаковые спектры глиаина, при этом они имели разные родительские формы. Условно их можно объединить в группы: (1) 65489, 65492, 65496, 65506, 65507, 65490_1, 65491_1; (2) 65512, 65513; (3) 65504_1, 65505; (4) 65490_2, 65491_2; (5) 65485_1, 65501; (6) 65502_1, 65503; (7) 65509_1, 65511_1 и (8) 65509_2, 65511_2. Всего при анализе отдельных зерновок для 36 образцов СГП получено 44 типа спектра глиаина, которые различались по составу компонентов, из них 36 были уникальными: они встречались один раз в изученной выборке семян образцов. О генетическом разнообразии образцов свидетельствуют и данные изучения их по составу другого запасного белка зерновки – субъединиц высокомолекулярного глютенина (Rasheed et al., 2012). Широкое разнообразие образцов по двум запасным белкам зерновки (Хакимова и др., 2018) указывает на возможность регистрации и надежной идентификации их с помощью белковых маркеров, а также использования СГП для создания новых сортов мягкой пшеницы с желаемым составом запасных белков, влияющих на свойства клейковины, от которой зависит хлебопекарное качество муки.

Для классификации образцов и биотипов СГП по степени сходства электрофоретических спектров глиаина проведен кластерный анализ, основанный на UPGMA (рисунок). В составе построенной дендрограммы выделены кластеры А, Б и В. Суммарно кластер А включал 28 биотипов, принадлежащих 13 образцам. Кластер Б состоял из трех субкластеров, из них Б₁ содержал 14 биотипов, относящихся к 13 образцам, Б₂ – 10 биотипов пяти образцов, Б₃ – 3 биотипа двух образцов, т.е. биотипы, выявленные в составе отдельного образца, часто находились в одних и тех же кластерах. Исключение составили биотипы образцов к-65502 и к-65508, оказавшиеся в кластерах А и Б₁, а также к-65494, представленные в кластерах А и Б₃. Вне кластеров оказался биотип к-65518_2. Следует отметить, что наличие общей отцовской формы у пар образцов к-65488 и к-65489, к-65501 и к-65506, к-65516 и к-65517 не оказало влияния на их группировку, в то время как наличие общей материнской формы способствовало объединению биотипов в отдельных кластерах. Так, в кластер В вошли образцы к-65499 и к-65500, у которых материнской формой был сложный гибрид 68.111/RGB-U//Ward/3/FGO/4/Rabi/5/ (см. Приложение 1). В субкластере Б₁ и кластере Б объединились биотипы образцов, в родословных которых были сорта твердой пшеницы Croc 1



UPGMA dendrogram of the similarity of gliadin electrophoretic spectra for 58 SHW biotypes.

(к-65498, к-65501, к-65514) и Doy 1 (к-65483, к-65495, к-65511, к-65518) соответственно. Известно, что глиадиновые белки у пшеницы контролируются по меньшей мере шестью главными сложными локусами или блоками тесно сцепленных генов *Gli-A1*, *Gli-B1*, *Gli-D1*, *Gli-A2*, *Gli-B2* и *Gli-D2*, локализованными в коротких плечах хромосом первой и шестой гомеологических групп, а также несколькими минорными локусами *Gli-A3*, *-A5*, *-A6* (хромосома 1AS), *Gli-B3*, *-B5* (1BS), *Gli-D4*, *-D5* (1DS) (Wang et al., 2017). По-видимому, различия или сходство аллелей генов этих локусов у образцов СГП и определяют разнообразие или сходство их глиадиновых белков.

При сравнении компонентного состава глиаина у 13 выщипывшихся форм было установлено 35 типов спектров глиаина, из них 28 уникальных (Приложение 4).

Изменения в спектрах, как и у исходных образцов, проявлялись по наличию–отсутствию компонентов разных зон и их интенсивности. Некоторые формы (они обозначены буквой «в») имели спектры, идентичные спектрам глиадины биотипов исходных образцов, а именно: к-65498_1в = к-65498_1; к-65501_2в = к-65501_2; к-65508_2в = к-65508_2; к-65511_1в = к-65511_2; 65511_4в = 65511_4; к-65518_1в = к-65518_1 и к-65518_2в = к-65518_2. Кроме того, у каждой выщепившейся формы также было обнаружено от одного до трех новых типов спектров этого белка. На дендрограмме (не приведена), построенной на основе сравнения всех полученных электрофоретических спектров, каких-либо отдельных кластеров биотипы выщепившихся форм не образовали. Они группировались вместе с биотипами исходных образцов.

Заключение

Включенные в коллекцию ВИР образцы СГП разнообразны по многим изученным признакам, примерно половина из них к тому же гетерогенная, что может быть следствием полиморфизма участвовавших в скрещиваниях родительских форм. Особо следует отметить нестабильность одной трети образцов и комплексный характер отличий выщепившихся форм от исходных образцов. Выявленная нестабильность, – возможно, результат продолжающейся реорганизации геномов СГП, изменений у них экспрессии генов (Щербань, 2013; Tonosaki et al., 2016). Данные по изучению характера конъюгации хромосом, подсчету мейотического индекса и определению числа микроядрышек в клетках пыльников у образцов СГП в сравнении с мягкой пшеницей подтверждают наличие такого процесса (Лапочкина и др., 2014; Frizon et al., 2017).

Вся совокупность образцов СГП, а также выщепившиеся из них формы – это оригинальная модельная популяция для оценки эволюционных изменений, происходящих в процессе адаптации межродовых гибридов, сходных по геномному составу с мягкой пшеницей, к различным эколого-географическим условиям. Они представляют собой ценный генетический ресурс для расширения генофонда мягкой пшеницы и ее селекционного улучшения не только по рассмотренным в этой статье признакам, но и по устойчивости к различным вредоносным болезням. В настоящее время нами завершено изучение образцов СГП по устойчивости к популяциям бурой ржавчины, собранным в различных регионах России, а также созданы линии F₅–F₇ поколений самоопыления от скрещивания отечественных сортов озимой мягкой пшеницы с отдельными образцами СГП с целью получения нового исходного материала озимого и ярового типов развития для селекции. Эти данные будут изложены в последующих публикациях.

Список литературы / References

Идентификация сортов и регистрация генофонда культурных растений по белкам семян. СПб.: ВИР, 2000.
[Identification of Varieties and Registration of the Gene Pool of Cultivated Plants by Seed Proteins. St. Petersburg: VIR, 2000. (in Russian)]
Лапочкина И.Ф., Иорданская И.В., Ячевская Г.Л., Лаббан А.А. Цитогенетическое изучение коллекции синтетической пшеницы

из Национальной коллекции злаков США (National Small Grain Collection of USDA-ARS) в условиях Нечерноземной зоны России. С.-х. биология. 2014;3:77-82.

[Lapochkina I.F., Iordanskaya I.V., Yachevskaya G.L., Labban A.A. Cytogenetic study of synthetic wheats from National Small Grain Collection of USDA-ARS in the conditions of Nechernozemnaya zone of Russia. Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya = Agricultural Biology. 2014;3:77-82. DOI 10.15389/agrobiology.2014.3.77rus. (in Russian)]

Мережко А.Ф., Удачин Р.А., Зуев Е.В., Филатенко А.А., Сербин А.А., Ляпунова О.А., Косов В.Ю., Куркиев У.К., Охотникова Т.В., Наврузбеков Н.А., Богуславский Р.Л., Абдулаева А.К., Чикида Н.Н., Митрофанова О.П., Потоккина С.А. Пополнение, сохранение в живом виде и изучение мировой коллекции пшеницы, эгилопса и тритикале (Методические указания). СПб.: ВИР, 1999.

[Merezhko A.F., Udachin R.A., Zuev Ye.V., Filatenko A.A., Serbin A.A., Lyapunova O.A., Kosov V.Yu., Kurkiev U.K., Okhotnikova T.V., Navruzbekov N.A., Boguslavsky R.L., Abdulaeva A.K., Chikida N.N., Mitrofanova O.P., Potokina S.A. Guidelines on the Replenishment, Preservation in Living Form, and Study of the World Collection of Wheat, Aegilops, and Triticale. St. Petersburg: VIR Publ., 1999. (in Russian)]

Хакимова А.Г., Пюккенен В.П., Дульнева Н.Д., Шестобитов В.В., Губарева Н.К., Мартыненко Н.М., Митрофанова О.П. Каталог мировой коллекции ВИР. Пшеница. Синтетическая гексаплоидная пшеница: характеристика 36 образцов из СИММИТ, привлеченных в коллекцию ВИР (паспортные данные, морфологическое описание, хозяйственно ценные признаки, регистрация по спектрам глиадины). СПб., 2018.

[Khakimova A.G., Pukkenen V.P., Dulneva N.D., Shestobitov V.V., Gubareva N.K., Martynenko N.M., Mitrofanova O.P. Catalog of the World Collection of VIR. Wheat. Synthetic Hexaploid Wheat: Characteristics of 36 Accessions from CIMMYT Added to the VIR Collection (Certificate Data, Morphological Description, Economically Valuable Signs, Registration According to Gliadin Spectra). St. Petersburg, 2018. (in Russian)]

Шаманин В.П., Потоцкая И.В., Шепелев С.С., Пожерукова В.Е., Чурсин А.С., Моргунов А.И. Синтетическая пшеница: монография. Омск, 2018.

[Shamanin V.P., Pototskaya I.V., Shepelev S.S., Pozherukova V.E., Chursin A.S., Morgunov A.I. Synthetic Wheat, a Monograph. Omsk, 2018. (in Russian)]

Широкий унифицированный классификатор СЭВ рода *Triticum* L. Л., 1989.

[The CMEA Wide Unified Classifier of the Genus *Triticum* L. Leningrad, 1989. (in Russian)]

Щербань А.Б. Реорганизация генома растений в ходе аллополиплоидизации. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2013;17(2):277-285.

[Shcherban A.B. The reorganization of plant genomes during allopolyploidization. Russ. J. Genet.: Appl. Res. 2013;3(6):444-450. DOI 10.1134/S2079059713060087.]

Beales J., Turner A., Griffiths S., Snape J.W., Laurie D.A. A pseudo-response regulator is misexpressed in the photoperiod insensitive *Ppd-1a* mutant of wheat (*Triticum aestivum* L.). Theor. Appl. Genet. 2007;115:721-733. DOI 10.1007/s00122-007-0603-4.

del Blanco I.A., Rajaram S., Kronstad W.E. Agronomic potential of synthetic hexaploid wheat-derived populations. Crop Sci. 2001; 41:670-676. <https://dl.sciencesocieties.org/publications/cs/abstracts/41/3/670>.

Diaz A., Zikhali M., Turner A.S., Isaac P., Laurie D.A. Copy number variation affecting the *Photoperiod-B1* and *Vernalization-A1* genes is associated with altered flowering time in wheat (*Triticum aestivum*). Plos One. 2012;7(3):e33234. DOI 10.1371/journal.pone003234.

Frizon P., Brammer S.P., Lima M.I.P.M., de Castro R.L., Deuner C.C. Genetic stability in synthetic wheat accessions: cytogenetic evalua-

- tion as a support in breeding programs. *Ciência Rural*. 2017;47(4): 1-7. DOI 10.1590/0103-8478cr20160314.
- Gill B.S., Raupp W.J., Sharma H.C., Browder L.E., Hatchett J.H., Harvey T.L., Moseman J.G., Waines J.G. Resistance in *Aegilops squarrosa* to wheat leaf rust, wheat powdery mildew, greenbug, and hessian fly. *Plant Dis.* 1986;70:553-556. https://www.apsnet.org/publications/PlantDisease/BackIssues/Documents/1986Articles/PlantDisease70n06_553.PDF.
- Gul Kazi A., Rasheed A., Mahmood T., Mujeeb-Kazi A. Molecular and morphological diversity with biotic stress resistances of high 1000-grain weight synthetic hexaploid wheats. *Pak. J. Bot.* 2012; 44(3):1021-1028. https://www.researchgate.net/publication/260594114_Molecular_and_morphological_diversity_with_biotic_stress_resistances_of_high_1000-grain_weight_synthetic_hexaploid_wheats.
- Huang L., Wang Q., Zhang L.-Q., Yuan Z.-W., Wang J.-R., Zhang H.-G., Zheng Y.-L., Liu D.-C. Haplotype variations of gene Ppd-D1 in *Aegilops tauschii* and their implications on wheat origin. *Genet. Res. Crop Evol.* 2012;59:1027-1032. DOI 10.1007/s10722-011-9741-2.
- Kihara H. Discovery of the DD-analyser, one of the ancestors of *Triticum vulgare*. *Agric. Hortic.* 1944;19:889-890.
- Li A., Liu D., Yang W., Kishii M., Mao L. Synthetic hexaploid wheat: yesterday, today, and tomorrow. *Engineering*. 2018;4:552-558. DOI 10.1016/j.eng.2018.07.001.
- McFadden E.S., Sears E.R. The origin of *Triticum spelta* and its free-threshing hexaploid relatives. *J. Hered.* 1946;37(4):107-116. DOI 10.1093/oxfordjournals.jhered.a105590.
- Mujeeb-Kazi A., Delgado R. A second, elite set of synthetic hexaploid wheats based upon multiple disease resistance. *Ann. Wheat Newslett.* 2001;47:114-115.
- Mujeeb-Kazi A., Fuentes-Davila G., Delgado R., Rosas V., Cano S., Cortes A., Juarez L., Sanches J. Current status of D genome based, synthetic hexaploid wheats and the characterization of an elite subset. *Ann. Wheat Newslett.* 2000;46:76-79.
- Mujeeb-Kazi A., Hettel G.P. (Eds.). Utilizing Wild Grass Biodiversity in Wheat Improvement: 15 years of Wide Cross Research at CIMMYT. CIMMYT Research Report No. 2, 1995.
- Mujeeb-Kazi A., Rosas V., Roldan S. Conservation of the genetic variation of *Triticum tauschii* (Coss.) Schmalh. (*Aegilops squarrosa* auct. non L.) in synthetic hexaploid wheat (*T. turgidum* L. s. lat. \times *T. tauschii*; $2n = 6x = 42$, AABBDD) and its potential utilization for wheat improvement. *Genet. Res. Crop Evol.* 1996;39:129-134. Available at <https://link.springer.com/article/10.1007%2FBF00126756#page-1>.
- Nishida H., Yoshida T., Kawakami K., Fujita M., Long B., Akashi Y., Laurie D.A., Kato K. Structural variation in the 5' upstream region of photoperiod-insensitive alleles Ppd-A1a and Ppd-B1a identified in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) and their effect on heading time. *Mol. Breeding*. 2013;31:27-37. DOI 10.1007/s11032-012-9765-0.
- Ogbonnaya F.C., Abdalla O., Mujeeb-Kazi A., Kazi A.G., Xu C.C., Gosman N., Lagudah E.S., Bonnett D., Sorrells M., Tsujimoto H. Synthetic hexaploids: harnessing species of the primary gene pool for wheat improvement. *Plant Breed. Rev.* 2013;37:35-122. DOI 10.1002/9781118497869.ch2.
- Rasheed A., Saldar T., Gul-Kazi A., Mahmood T., Akram Z., Mujeeb-Kazi A. Characterization of HMW-GS and evaluation of their diversity in morphologically elite synthetic hexaploid wheats. *Breed. Sci.* 2012;62:365-370. DOI 10.1270/jsbbs.62.365.
- Tonosaki K., Osabe K., Kawanabe T., Fujimoto R. The importance of reproductive barriers and the effect of allopolyploidization on crop breeding. *Breed. Sci.* 2016;66:333-349. DOI 10.1270/jsbbs.15114.
- UniProt. Taxonomy – \times *Aegilotriticum* (GENUS) 2019. Available at <https://www.uniprot.org/taxonomy/289427>.
- van Ginkel M., Ogbonnaya F. Novel genetic diversity from synthetic wheats in breeding cultivars for changing production conditions. *Field Crops Res.* 2007;104:86-94. DOI 10.1016/j.fcr.2007.02.005.
- Wang D.-W., Li D., Wang J., Zhao U., Wang Z., Yue G., Liu X., Qin H., Zhang K., Dong L., Wang D. Genome-wide analysis of complex wheat gliadins, the dominant carriers of celiac disease epitopes. *Sci. Rep.* 2017;7:44609. DOI 10.1038/srep44609.
- Wilhelm E.P., Turner A.S., Laurie D.A. Photoperiod insensitive *Ppd-A1a* mutations in tetraploid wheat (*Triticum durum* Desf.). *Theor. Appl. Genet.* 2009;118:285-294. DOI 10.1007/s00122-008-0898-9.
- Yan L., Liu Z., Xu H., Zhang X., Zhao A., Liang F., Xin M., Peng H., Yao Y., Sun Q., Ni Z. Transcriptome analysis reveals potential mechanisms for different size between natural and resynthesized allohexaploid wheats with near-identical AABB genomes. *BMC Plant Biol.* 2018;18:28. DOI 10.1186/s12870-018-1248-y.
- Yang W., Liu D., Li J., Zhang L., Wei H., Hu X., Zheng Y., He Z., Zou Y. Synthetic hexaploid wheat and its utilization for wheat genetic improvement in China. *J. Genet. Genomics.* 2009;36:539-546. DOI 10.1016/S1673-8527(08)60145-9.

Acknowledgements. This work was supported by State Budgeted Project 0662-2019-0006 for VIR "Search, maintenance, and disclosure of the potential of hereditary variability of the world collection of cereal crops for gene bank development and optimization and for its rational use in breeding and crop industry", state registration no. AAAA-A16-116040710373-1. Use was made of the unique research facility VIR Plant Genetic Resources Gene Bank.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received April 29, 2019. Revised May 21, 2019. Accepted May 23, 2019.