

А.В. ГАЛАЕВ, Ю.М. СИВОЛАП

Южный биотехнологический центр в растениеводстве
УААН и МОН Украины
Овидиопольская дорога 3, Одесса, 65036,
e-mail: yuri@genome.intes.odessa.ua

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ГЕНОМА ПШЕНИЦЫ (*T. AESTIVUM* L.) С ИНТРОГРЕССИЕЙ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ЭЛЕМЕНТОВ *Ae. CYLINDRICA* HOST



При помощи микросателлитных маркеров исследовали растения пшенично-эгилопсных гибридов *Triticum aestivum* L. ($2n = 42$) \times *Aegilops cylindrica* Host ($2n = 28$). В двух линиях BC_1F_2 детектировали изменения генома, которые связаны с утерей отдельных фрагментов ДНК исходного сорта пшеницы или проявлением элементов генома эгилопса. Кроме того, у исследуемых растений отмечены новые, не описанные у родителей ампликоны. Не выявлено замещений хромосом мягкой пшеницы гомеологичными хромосомами эгилопса. Микросателлитный анализ растений BC_1F_2 показал стабильное внедрение генетических элементов эгилопса в растения пшеницы; элиминацию отдельных перенесенных участков генома эгилопса в процессе беккроссирования; уменьшение размера интрогрессивного фрагмента при повторном беккроссировании. Проведена классификация интрогрессивных линий мягкой пшеницы по характеру изменений генома.

© А.В. ГАЛАЕВ, Ю.М. СИВОЛАП, 2005

ISSN 0564–3783. Цитология и генетика. 2005. № 3

Введение. Мягкая пшеница *T. aestivum* L. (AABBDD; $2n = 42$) является одной из основных продовольственных культур и предметом интенсивного генетического исследования. В связи с длительной селекцией и распространением ограниченного числа высокопродуктивных генотипов культивируемые сорта характеризуются относительно низким генетическим разнообразием и утратой некоторых генов устойчивости к стрессам. Генофонды диких сородичей пшеницы, в частности, эгилопсов содержат гены устойчивости к биотическим и абиотическим стрессам, утраченным или не экспрессируемым в пшенице. Для улучшения генома мягкой пшеницы современными проектами предусматривается вовлечение в практическую селекцию генофонда диких видов. Перспективным источником ценных в агрономическом плане генов считают виды родственного пшенице рода *Aegilops* [1–5].

Aegilops cylindrica Host (CCDD; $2n = 28$) рассматривают в качестве перспективного источника генов устойчивости к грибным заболеваниям [6, 7]. Осуществлена интрогрессия элементов генома *Ae. cylindrica* в *T. aestivum* [8]. Из полученных пшенично-эгилопсных гибридов отобраны формы пшеницы BC_1F_2 , обладающие устойчивостью к мучнистой росе, бурой, листовой и стеблевой ржавчине, септориозу, фузариозу, твердой и пыльной головне.

T. aestivum и *Ae. cylindrica* так же, как и другие злаки, содержат большое количество повторяющихся последовательностей (ПП) в геноме. Количество повторов составляет у многих растений более 70 % ДНК [9]. Значительная часть ПП организована в тандемные кластеры. К тандемным повторам относятся макро-, мини- и микросателлитные последовательности с длиной мономера от нескольких тысяч до менее шести пар нуклеотидов (п.н.). Высокая скорость эволюции сателлитных повторов привела к появлению в геноме последовательностей, специфичных для определенных таксономических групп, что позволяет маркировать генетический материал в различных гибридных комбинациях [10, 11].

Детальную информацию о протяженности интрогрессивного фрагмента и его локализации в определенной гомеологической группе хромосом можно получить при помощи микросателлитных (МС) или SSR (simple sequence repeats) маркеров. Микросателлиты являются

относительно новым поколением молекулярных маркеров, нашедших широкое применение в исследовании генома пшеницы [12] и других злаков [13, 14], и представляют интерес для анализа геномов отдаленных гибридов [10, 11, 15].

SSR и прилегающие к ним участки ДНК диких и культурных сороричей пшеницы имеют высокую гомологию с аналогичными последовательностями генома *T. aestivum* [10, 15, 16], поэтому в настоящем исследовании использованы микросателлитные маркеры с известной локализацией на хромосомах мягкой пшеницы [12]. Для детекции интрогрессии применили MC-маркеры, локализованные не только в субгеноме D, гомеологичном субгеному D *Ae. cylindrica*, но и в A и B субгеноме пшеницы, так как известно, что субгеном C *Ae. cylindrica* подобно геному C *Ae. caudata* [17] способен частично подавлять систему диплоидизации пшеницы (Ph-гены). В условиях частичной супрессии Ph-генов хромосомы субгенома D *Ae. cylindrica* могут конъюгировать с хромосомами субгенома A и B пшеницы, хромосомы субгенома C *Ae. cylindrica* — с хромосомами пшеницы субгенома A [18]. В результате отдаленной гибридизации возможны структурные изменения и реорганизация гибридного генома [19–21]. Изучение этих преобразований привлекательно для определения роли отдельных последовательностей ДНК в процессах структурной реорганизации генома и представления возможного механизма их эволюции.

Целью нашего исследования является установление особенности изменения генома мягкой пшеницы, произошедшей в результате гибридизации с *Ae. cylindrica*, а также характеристика обнаруженных изменений у форм гибридного происхождения на различных этапах беккроссирования и самоопыления.

Материалы и методы. *Исходный материал.* Сорт мягкой пшеницы Одесская полукарликовая, местная популяция *Ae. cylindrica*, интрогрессивные линии 5/20-91¹, 5/55-91¹, 237/2000² и 378/2000³, полученные на основе беккроссирования со следующим происхождением:

1) [(Одесская полукарликовая × *Ae. cylindrica*) × Одесская полукарликовая]F₉ (2n = 42);

2) (5/20-91¹ × Одесская полукарликовая) F₅ (2n = 42);

3) (5/55-91¹ × Одесская полукарликовая) F₅ (2n = 42).

Интрогрессивные линии 5/20-91 и 5/55-91 характеризуются переданной от эгилопса комплексной устойчивостью к ряду грибных заболеваний. Различаются указанные линии между собой степенью устойчивости и количеством генов, контролирующих устойчивость к тому или иному фитопатогену [8].

Выделение ДНК. Суммарную ДНК выделяли из этиолированных проростков с помощью СТАВ-буфера [22]. Для выделения ДНК каждой родительской формы и интрогрессивных линий брали по 15 индивидуальных растений.

Праймеры к микросателлитным локусам пшеницы. Анализ проводили с помощью 84 пар праймеров к 104 MC локусам с известной локализацией на хромосомах мягкой пшеницы [12]. 70 пар праймеров картированы в единственных локусах на генетической карте гексаплоидной пшеницы. Другие 14 детектировали 2 локуса (9 пар праймеров), 3 (4) и 4 (1) различных локуса. TagIgar локализован в γ-глюадин псевдогене, а TagIut в низкомолекулярном (LMW — low-molecular-weight) гене глютелина [23].

Полимеразная цепная реакция и анализ амплифицированных фрагментов. Состав реакционной смеси и условия амплификации для проведения SSR-ПЦР описаны Сиволапом с соавт. [24].

Продукты амплификации фракционировали электрофорезом в агарозных и полиакриламидных гелях. Агарозные гели использовали для предварительной оценки полученных ампликонов. Условия электрофореза: 1–2 ч при 110 В в 2%-ном агарозном геле. Фрагменты ДНК в агарозном геле окрашивали бромистым этидием. После прохождения электрофореза гели фотографировали в УФ-излучении, используя красный фильтр, на пленку «Микрат-300». Для лучшего разделения аллелей MC локуса между собой использовали полиакриламидные гели (ПААГ). Электрофорез проводили на приборе Hoefer SE600 при напряжении 500 В при 55 °С в течение 2–2,5 ч в 10%-ном ПААГе. Фрагменты ДНК в полиакриламидных гелях окрашивали 0,012 М AgNO₃ согласно Silver sequence TM

Микросателлитные локусы пшеницы, использованные для анализа родительских форм интрогрессивных линий 5/20-91 (BC₁F₆) и 5/55-91 (BC₁F₆)

Гомеологическая группа	Геном		
	A	B	D
1	Xgwm 33*, Xgwm 357, Xgwm 497*, Xgwm 666*, Taglut	Xgwm 18, Xgwm 33 , Xwmc 44 , Xgwm 124, Xgwm 131, Xgwm 140, Xgwm 153 , Xgwm 259, Xgwm 264, Xgwm 268, Xwmc 367, Xgwm 498 , Taggar, Xcfa 2147	Xgwm 33, Xgwm 106, Xgwm 232, Xgwm 337, Xgwm 458, Xgwm 642
2	Xgwm 95, Xgwm 296, Xgwm 445, Xgwm 497, Xgwm 558	Xgwm 129, Xgwm 319, Xgwm 388, Xgwm 410, Xgwm 526, Xgwm 619	Xgwm 30, Xgwm 157, Xgwm 210, Xgwm 261, Xgwm 296, Xgwm 484, Xgwm 608
3	Xgwm 2, Xgwm 5, Xgwm 30, Xgwm 155, Xgwm 666*, Xgwm 674	Xgwm 131, Xgwm 264, Xgwm 284, Xgwm 389, Xgwm 493, Xgwm 533	Xgwm 2, Xgwm 3, Xgwm 52, Xgwm 161, Xgwm 314, Xgwm 341, Xgwm 383, Xgwm 456, Xgwm 497, Xgwm 645, Xgwm 664
4	Xgwm 160, Xgwm 165, Xgwm 695	Xgwm 165, Xgwm 513	Xgwm 165, Xgwm 194, Xgwm 608
5	Xgwm 126, Xgwm 129, Xgwm 156, Xgwm 186, Xgwm 304, Xgwm 410*, Xgwm 617*, Xgwm 639*, Xgwm 666*	Xgwm 408, Xgwm 639*	Xgwm 174, Xgwm 182, Xgwm 190, Xgwm 192, Xgwm 212, Xgwm 292, Xgwm 583, Xgwm 639*
6	Xgwm 169, Xgwm 427, Xgwm 617	Xgwm 680	Xgwm 325
7	Xgwm 631, Xgwm 666*	Xgwm 46, Xgwm 577	Xgwm 437

Примечание. Жирный шрифт — отсутствие амплификации МС у эгилопса; курсив — отсутствие полиморфизма между пшеницей и эгилопсом. *Отсутствие четкого продукта амплификации; локализация МС локуса Xgwm 13 неизвестна.

DNA Sequencing System Technical Manual («Promega»). Молекулярную массу продуктов амплификации (в п.н.) определяли согласно маркерам pGEM, γ /PstI и pUC18(19)/ MspI с помощью компьютерной программы «Image Master 1D Elite». Документировали полученные электрофореграммы при помощи видеосистемы VDS (Pharmacia Biotech).

Результаты исследования и их обсуждение.
Детекция молекулярно-генетического полиморфизма родительских форм. Для выявления аллелей, встречающихся в популяции родительских форм, в исследование взята выборка из 15 индивидуальных растений сорта Одесская полукарликовая и 15 индивидуальных растений местной популяции *Ae. cylindrica*. При использовании шести пар праймеров к 11 МС локусам из 104, взятых в исследование, не получено четких продуктов амплификации. МС анализ индивидуальных растений сорта Одесская полукарликовая по 93 локусам пшеницы позволил обнаружить 109 аллелей, из которых

полиморфными оказались 32 аллеля, выявленных при исследовании 16 МС локусов. Средний показатель внутрисортной гетерогенности составил 29,4 %. При исследовании молекулярно-генетической гетерогенности 15 индивидуальных растений *Ae. cylindrica* по результатам амплификации 93 локусов пшеницы детектировано 79 аллелей, 30 из которых полиморфны. Средний показатель внутривидовой гетерогенности *Ae. cylindrica* составил 38 %.

Предварительным этапом детекции чужеродного генетического материала в геноме интрогрессивных линий пшеницы является поиск фрагментов генома, по которым различаются родительские формы. Использование 17 пар праймеров к 18 МС локусам позволило детектировать одинаковое аллельное состояние исследуемых локусов у родительских форм. Три локуса локализованы на хромосомах пшеницы генома А, четыре локуса — генома В и 10 локусов — генома D (локализация локуса

Xgwm 13 неизвестна). Для 75 локусов выявлены полиморфные продукты амплификации, при этом по 29 МС локусам пшеницы отсутствовали фрагменты амплификации у *Ae. cylindrica* (табл. 1). Результаты воспроизведены в трех повторностях. В геноме эгилопса *Ae. cylindrica* присутствуют 49,4 % МС локусов пшеницы, при этом 4,3 % из них картированы в субгеноме А, 19,3 % — в субгеноме В и 25,8 % — в субгеноме D пшеницы. В 18 МС локусах, у которых выявлены одинаковые аллели у пшеницы и эгилопса, картированы два локуса в субгеноме А, четыре локуса в субгеноме В и 11 локусов в субгеноме D пшеницы (локализация локуса Xgwm 13 неизвестна). Наибольший процент мономорфности МС локусов у *Ae. cylindrica*, локализованных в геноме D пшеницы, свидетельствует о высокой гомологии генома D пшеницы и эгилопса и низком уровне гетерогенности D генома злаков. Интересно,

что некоторые МС локусы, локализованные на хромосомах А и В субгеномов пшеницы, присутствуют также в геноме *Ae. cylindrica*. Данный факт свидетельствует о гомеологии микросателлитных локусов субгеномов А и В пшеницы с субгеномами С и D *Ae. cylindrica*.

С помощью МС анализа родительских форм удалось выявить 75 локусов, которые использованы для детекции изменчивости генома пшеницы в результате гибридизации с *Ae. cylindrica*.

Генотипический анализ интрогрессивных линий 5/20-91 и 5/55-91. SSR-анализ интрогрессивных линий 5/20-91 и 5/55-91 проводили по 75 локусам, гетерогенность которых установлена у родительских форм. Благодаря относительно равномерному распространению маркеров по хромосомам возможно обнаружить различные фрагменты геномов донора *Ae. cylindrica* и реципиента *T. aestivum* сорта Одес-

Таблица 2

Микросателлитные локусы пшеницы, использованные для анализа интрогрессивных линий 5/20-91 (BC₁F₄) и 5/55-91 (BC₁F₄)

Гомеологическая группа	Геном		
	А	В	D
1	Xgwm 357, Taglut***	Xgwm 18*** , Xgwm 33***, Xwmc 44, Xgwm 106, Xgwm 131***, Xgwm 153, Xgwm 259*** , Xgwm 337***, Xgwm 458, Xgwm 264, Xgwm 268, Xwmc 367, Xgwm 498, Taggar, Xcfa 2147	Xgwm 33*** , Xgwm 106, Xgwm 131***, Xgwm 153, Xgwm 259*** , Xgwm 337***, Xgwm 458
2	Xgwm 296, Xgwm 445, Xgwm 497, Xgwm 558	Xgwm 319, Xgwm 388**, Xgwm 410, Xgwm 526, Xgwm 619**	Xgwm 210, Xgwm 261*
3	Xgwm 2, Xgwm 5, Xgwm 30***, Xgwm 155, Xgwm 674	Xgwm 131*, Xgwm 264, Xgwm 389*** , Xgwm 493, Xgwm 533	Xgwm 2, Xgwm 3, Xgwm 52, Xgwm 161, Xgwm 314** , Xgwm 341, Xgwm 383*** , Xgwm 456, Xgwm 497, Xgwm 645, Xgwm 664
4	Xgwm 160	Xgwm 165, Xgwm 513	Xgwm 165
5	Xgwm 126, Xgwm 129, Xgwm 156, Xgwm 186, Xgwm 304	Xgwm 408*	Xgwm 174* , Xgwm 182*** , Xgwm 190, Xgwm 192, Xgwm 212, Xgwm 292
6	Xgwm 169*, Xgwm 427**, Xgwm 617** Xgwm 680		Xgwm 325*
7	Xgwm 631	Xgwm 46, Xgwm 577**	Xgwm 437***

Примечание. Жирный шрифт — МС локус, по которому детектирован интрогрессивный аллель генома эгилопса; курсив — МС локус, по которому детектирован новый аллель, не характерный для родительских форм; подчеркнуто — делеция МС локуса пшеницы; *МС локус, по которому обнаружен интрогрессивный либо новый аллель, специфичный для линии 5/20-91. **МС локус, по которому обнаружен интрогрессивный либо новый аллель, специфичный для линии 5/55-91. ***МС локус, по которому обнаружен интрогрессивный либо новый аллель, присутствующий в обеих линиях.

ская полукарликовая. Хромосомы пшеницы 4A, 4B, 4D, 5B, 6A, 6B, 6D, 7A, 7B, 7D несли небольшое количество имеющихся в нашем распоряжении маркеров (1–3), поэтому анализ потомков по данным хромосомам был менее эффективным.

Отсутствие продуктов амплификации MC локуса пшеницы, наличие аллелей MC локуса, характерного для *Ae. cylindrica*, появление новых аллелей, не обнаруженных у родительских форм, оценивали как изменение генома пшеницы у форм гибридного происхождения. Генотипирование интрогрессивных линий позволило обнаружить и классифицировать следующие изменения генома пшеницы у гибридных растений (табл. 2): 1) отсутствие фрагмента амплификации MC локуса, характерного для сорта Одесская полукарликовая, и наличие фрагмента, характерного для *Ae. cylindrica* (интрогрессия фрагмента генома эгилопса в геном пшеницы) (рис. 1, а); 2) появление новых фрагментов амплификации MC локуса, отсутствующих в исследованной выборке родительских форм (рис. 1, б); 3) полное отсутствие фрагментов амплификации MC локуса (данный тип изменения можно объяснить делецией MC локуса пшеницы у гибридных растений, мутацией сайта праймирования, в результате чего невозможна амплификация фрагмента ДНК, либо транслокацией фрагмента генома эгилопса, не содержащего MC локуса пшеницы) (рис. 1, в).

Наиболее частый тип изменения, наблюдаемый у гибридных растений — интрогрессия фрагмента генома эгилопса. Делеция MC локуса пшеницы наблюдается реже (табл. 2). Наличие в интрогрессивных линиях новых аллелей, отсутствующих у пшеницы сорта Одесская полукарликовая и *Ae. cylindrica*, свидетельствует о высоком уровне полиморфизма внутри исходных родительских форм либо о реорганизации родительских геномов у гибридных растений, произошедшей в результате отдаленной гибридизации. Для тестирования первого предположения анализировали увеличенную с 15 до 50 выборку индивидуальных растений родительских форм по всем десяти локусам, по которым выявлен новый аллель. Увеличение выборки родительских форм не позволило обнаружить новых аллелей у того или иного родителя, что свидетельствует в пользу второго предположения.

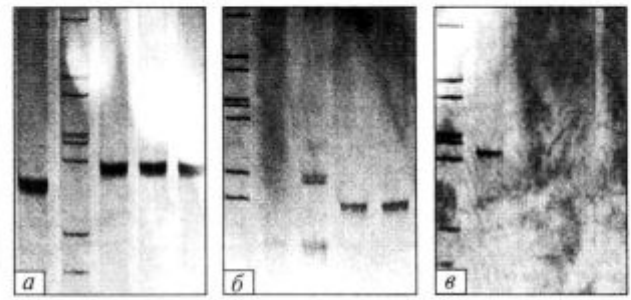


Рис. 1. Электрофореграммы продуктов амплификации с SSR-праймерами к локусам: а — Xgwm 18 (1BS); б — Xgwm 577 (7BL); в — Xgwm 427 (6AL); P1 — Одесская полукарликовая; P2 — *Ae. cylindrica*; A — 5/20-91; B — 5/55-91; M — маркер γ /Pst 1

Рис. 1. Электрофореграммы продуктов амплификации с SSR-праймерами к локусам: а — Xgwm 18 (1BS); б — Xgwm 577 (7BL); в — Xgwm 427 (6AL); P1 — Одесская полукарликовая; P2 — *Ae. cylindrica*; A — 5/20-91; B — 5/55-91; M — маркер γ /Pst 1

В генотипах линии 5/20-91 детектировали девять интрогрессивных фрагментов (рис. 2, А), при этом один фрагмент локализовали на хромосомах пшеницы субгенома А, три — субгенома В и пять — субгенома D. Три фрагмента отнесены к терминальным транслокациям (из них один фрагмент детектировал делецию MC локуса пшеницы), четыре — к интеркалярным транслокациям и один — к прицентромерным. По семи MC локусам пшеницы детектировали фрагменты, не характерные для родительских форм.

В генотипах интрогрессивной линии 5/55-91 идентифицировано девять интрогрессивных фрагментов (рис. 3, А), при этом два фрагмента локализованы на хромосомах пшеницы субгенома А, четыре — субгенома В и три — субгенома D. Четыре фрагмента отнесены к терминальным транслокациям (из них два фрагмента детектировали делецию MC локуса пшеницы), три — к интеркалярным транслокациям и один — к прицентромерным. MC анализ семи локусов пшеницы позволил обнаружить фрагменты, не характерные для родительских форм.

При сравнении изученных линий обнаружены специфические для них интрогрессивные фрагменты *Ae. cylindrica* (табл. 2). Для линии 5/20-91 специфичны интрогрессии, выявленные по MC локусам Xgwm 174 (5DL), Xgwm 261 (2DS) и Xgwm 325 (6DS). У линии 5/55-91 специфичные интрогрессивные фрагменты детектированы по MC локусам Xgwm 314 (3DL), Xgwm 619 (2BL) и Xgwm 427 (6AL),

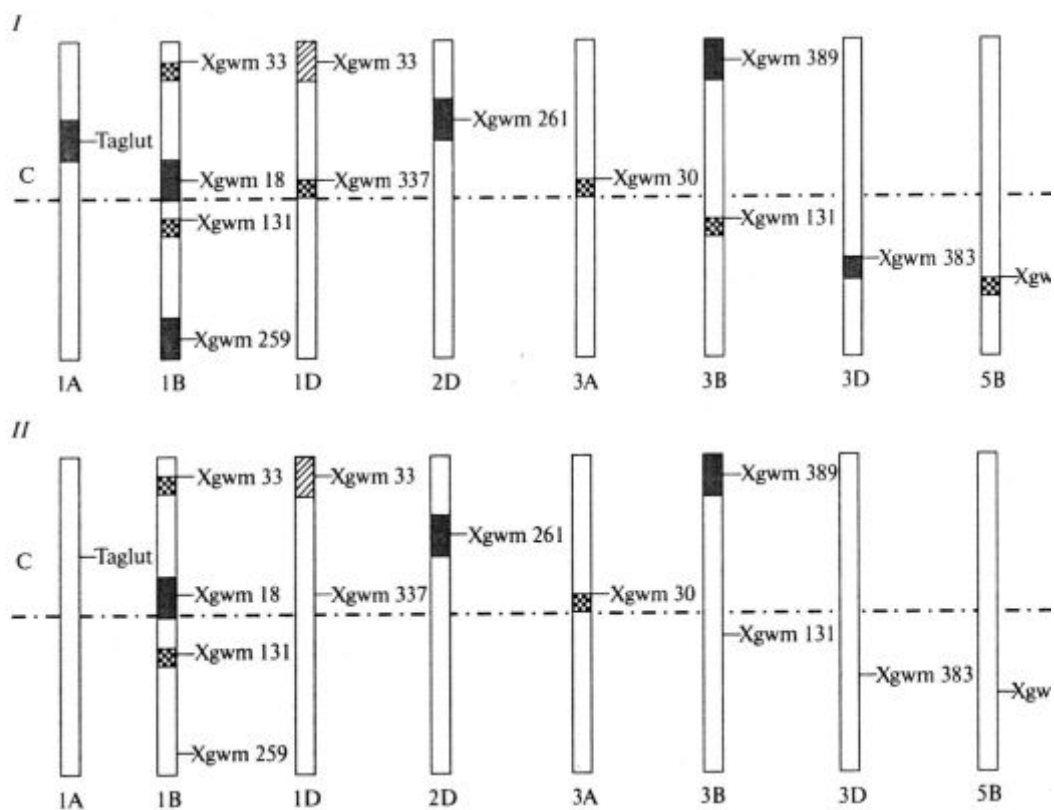


Рис. 2. Схематическое изображение хромосом линий 5/20-91 BC₁F₅ (I) и 237/2000 BC₂F₅ (II) с менения генома пшеницы. Схема локализации МС маркеров основана на генетической МС новые фрагменты амплификации МС локусов, отсутствующие у родительских форм: ▨ → пшеницы

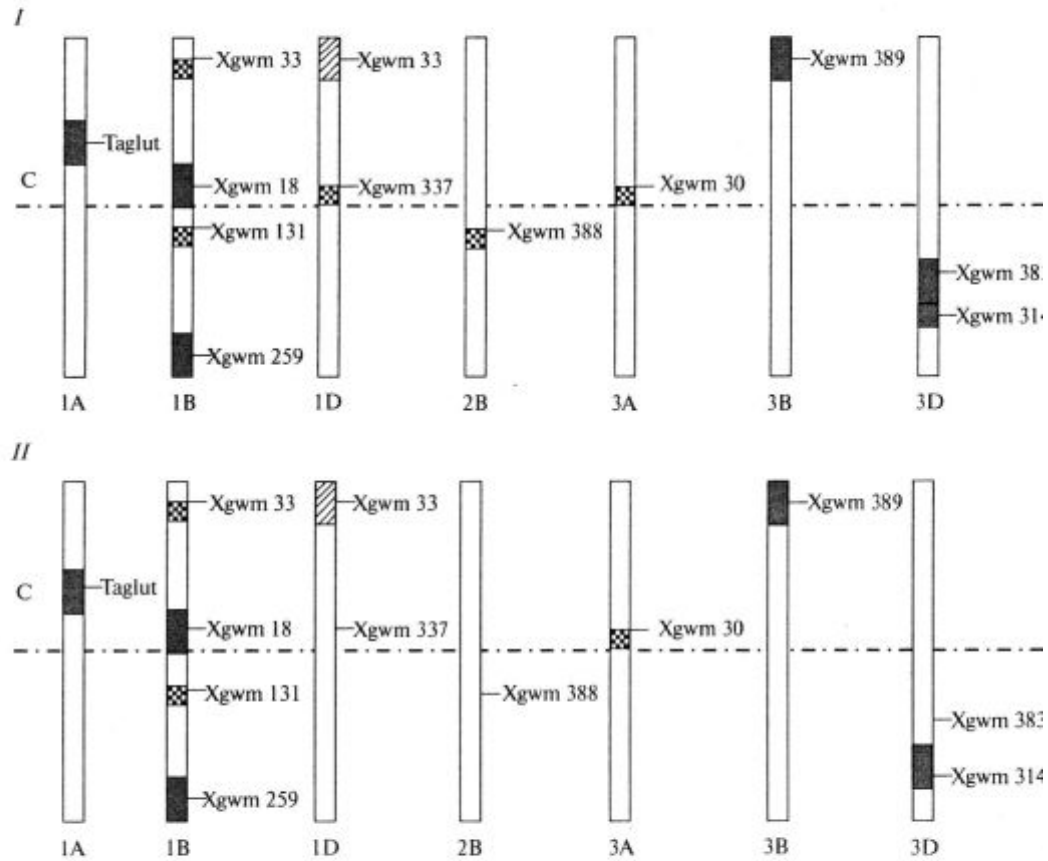


Рис. 3. Схематическое изображение хромосом линии 5/55-91 BC₁F₄ (I) и 378/2000 BC₂F₅ (II) с менения генома пшеницы. Схема локализации МС маркеров основана на генетической МС новые фрагменты амплификации МС локусов, отсутствующие у родительских форм; ▨ — пшеницы

Xgwm 617 (6AL). Общие интрогрессивные фрагменты, обнаруженные в обеих линиях, детектировали в локусах Xgwm 18 (1BS), Xgwm 33 (1DS), Xgwm 182 (5DL), Xgwm 259 (1BL), Xgwm 383 (3DL), Xgwm 389 (3BS) и Taglut (1AS). Большинство интрогрессивных фрагментов, обнаруженных у линий 5/20-91 и 5/55-91, присутствовали во всей исследованной выборке растений данных линий, за исключением пары праймеров к МС локусу Xgwm 325 (6DS), которые позволили детектировать интрогрессию у 11 индивидуальных растений линии 5/20-91 из 15 исследованных.

В результате исследования интрогрессивных линий 5/20-91 и 5/55-91 с помощью SSR-анализа удалось детектировать чужеродный генетический материал в геноме мягкой пшеницы и выявить генетическую гетерогенность у генотипов, полученных на основе гибридизации мягкой пшеницы и *Ae. cylindrica*. Показано присутствие всех хромосом каждой гомеологической группы мягкой пшеницы, что позволило исключить замещение какой-либо хромосомы мягкой пшеницы гомеологичной хромосомой эгилопса. МС маркеры, детектировавшие изменения в интрогрессивных линиях BC₁F₉, использованы для исследования беккроссных потомков линий 5/20-91 (линия 237/2000) и 5/55-91 (линия 378/2000), выделенных в пятом самоопыленном поколении беккроссного растения BC₂ (2n = 42).

Генотипический анализ интрогрессивных линий 237/2000 и 378/2000. Анализ растений BC₂F₃ потомков линий 5/55-91 и 5/20-91 позволил обнаружить следующие изменения гибридного генома (рис. 2, II и рис. 3, II): 1) сохранение интрогрессивных фрагментов в растениях; 2) элиминация обнаруженных интрогрессивных фрагментов генома эгилопса; 3) уменьшение размера интрогрессивного фрагмента при повторном беккроссировании; 4) сохранение новых фрагментов в растениях; 5) элиминация обнаруженных новых фрагментов в гибридных растениях.

Исследование беккроссных потомков пшенично-эгилопсных гибридов показало присутствие генетического материала эгилопса в геноме индивидуальных растений, выделенных на различных этапах беккроссирования. При этом наблюдалось уменьшение количества

интрогрессивных фрагментов у растений более глубоких беккроссов, что свидетельствует о постепенном вытеснении чужеродного генетического материала *Ae. cylindrica*, внесенного в геном мягкой пшеницы, у пшенично-эгилопсных гибридов при каждом последующем возвратном скрещивании с мягкой пшеницей.

Из двух вариантов делеций, отмеченных в растениях линии 5/55-91, в более поздних генерациях элиминировала делеция в теломерной области длинного плеча хромосомы 6A пшеницы (рис. 3). Данный факт свидетельствует о том, что делеции характерны для ранних гибридных поколений, тогда как последующие беккроссирование и отбор приводят к элиминации перестроек этого типа.

В связи с тем, что беккроссные растения BC₁ и BC₂ в последующих самоопылениях сопровождалась отбором на устойчивость к фитозаболеваниям, следует ожидать изменение спектра интрогрессивных фрагментов генома эгилопса в пшеничном геноме: стабильность одних интрогрессий, связанных с переданной комплексной устойчивостью, и элиминация других, не связанных с переданной устойчивостью. Так, в растениях линий 237/2000 и 378/2000 отмечена с помощью девяти МС локусов стабильная интрогрессия. Из них четыре присутствовали в обеих линиях (Xgwm 18 — 1BS, Xgwm 33 — 1BS, Xgwm 389 — 3BS и Xgwm 182 — 5DL), два — только в линии 237/2000 (Xgwm 174 — 5DL, Xgwm 261 — 2DS) и три — в линии 378/2000 (Taglut — 1AS, Xgwm 259 — 1BL, Xgwm 314 — 3DL). Данные МС маркеры могут быть использованы для генотипирования расщепляющейся популяции с целью выявления перенесенных от эгилопса в пшеницу продуктов интрогрессии, сцепленных с геном (генами) устойчивости к фитопатогенам.

Так как устойчивость изученных линий к грибным заболеваниям могла возникнуть не только за счет интрогрессии участка генома *Ae. cylindrica*, несущего гены устойчивости, но и за счет хромосомных перестроек, возникших под действием отдаленной гибридизации, необходимо учитывать также МС локусы, для которых обнаружены новые аллели при поиске маркеров к гену (генам) устойчивости.

Таким образом, использование микросателлитных маркеров пшеницы позволило охарак-

теризовать изменчивость, вызванную интрогрессией чужеродного генетического материала *Ae. cylindrica* в геном *T. aestivum*. Показана стабильность выявленных интрогрессий у гибридных форм на различных этапах беккроссирования и локализованы интрогрессивные фрагменты в геноме мягкой пшеницы, что позволит использовать изученные линии в генетическом анализе.

SUMMARY. Wheat-aegilops hybrid plants *Triticum aestivum* L. ($2n = 42$) \times *Aegilops cylindrica* Host ($2n = 28$) were investigated with using microsatellite markers. In two BC₁F₃ lines some genome modifications connected with losing DNA fragments of initial variety or appearing of *Aegilops* genome elements were detected. In some investigated hybrids new amplicons lacking in parental plants were found. Substitution of wheat chromosomes for aegilops chromosomes was not revealed. Analysis of microsatellite loci in BC₂F₃ plants showed stable introgression of aegilops genetic elements into wheat; elimination of some transferred aegilops DNA fragments in the course of backcrossing; decreasing size of introgressive elements after backcrossing. Introgressive lines were classified according to genome changes.

РЕЗЮМЕ. За допомогою мікросателітних маркерів досліджували рослини пшенично-егілопсних гібридів *Triticum aestivum* L. ($2n = 42$) \times *Aegilops cylindrica* Host ($2n = 28$). В двох лініях BC₁F₃ детектували зміни геному, які зв'язані з утратою окремих фрагментів ДНК вихідного сорту пшениці чи появою елементів геному егілопса. Крім того, в досліджених рослинах відзначено нові, не описані у батьків амплікони. Не виявлено замішень хромосом м'якої пшениці гомеологічними хромосомами егілопса. Мікросателітний аналіз рослин BC₂F₃ показав стабільне упровадження генетичних елементів егілопса в рослини пшениці; елімінацію окремих ділянок геному егілопса в процесі бекросування; зменшення розміру інтрогрессивного фрагмента при повторному беккросуванні. Проведено класифікацію інтрогрессивних ліній м'якої пшениці за характером змін геному.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Innes R.L., Kerber E.R. Resistance to wheat leaf rust and stem rust in *Triticum tauschii* and inheritance in hexaploid wheat of resistance transferred from *T. tauschii* // *Genome*. — 1994. — 37. — P. 813–822.
- Bonhomme A., Gale M.D., Koebner R.M.D., Nicolas P., Jahier J., Bernard M. RFLP analysis of an *Aegilops ventricosa* chromosome that carries a gene conferring resistance to leaf rust (*Puccinia recondita*) when transferred to hexaploid wheat // *Theor. Appl. Genet.* — 1995. — 90. — P. 1042–1048.
- Harjit-Singh, Tsujimoto H., Sakhuja P.K., Singh T., Dhaliwal H.S. Transfer of resistance to wheat pathogens from *Aegilops triuncialis* into bread wheat // *Wheat Inform. Serv.* — 2000. — № 91. — P. 5–20.
- Aghaee-Sarbarzeh M., Dhaliwal H.S., Chhuneja P., Harjit-Singh. Suppression of resistance genes from distantly related species in *Triticum durum* — *Aegilops amphiploids* // *Wheat Inform. Serv.* — 2001. — № 92. — P. 12–16.
- Friebe B., Raupp W.J., Gill B.S. Alien genes in wheat improvement // *Wheat in a Global Environment: Proc. 6th Internat. Wheat Conf.*, 5–9 June 2000. — Budapest, 2000. — P. 707–720.
- Бочев Б., Куновски Ж., Ганева Г. Род *Aegilops* L. как источник устойчивости к грибным болезням для селекции пшениц // *Тр. по приклад. ботанике, генетике и селекции ВНИИ растениеводства*. — 1982. — 73, вып. 3. — С. 111–120.
- Бабаянц Л.Т., Рыбалка О.И., Аксельруд Д.В. Нове джерело стійкості пшениці до основних хвороб // Реалізація потенційних можливостей сортів і гібридів Селекційно-генетичного інституту в умовах України: Зб. наук. пр. — Одеса, 1996. — С. 111–116.
- Бабаянц Л.Т., Рыбалка А.И., Бабаянц О.В., Бушулли М.А., Васильев А.А., Дубинина Л.А., Мирось С.Л. Новый исходный материал для селекции пшеницы на устойчивость к возбудителям инфекционных заболеваний // Пшеница и тритикале: Материалы науч.-практ. конф. «Зеленая революция П.П. Лукьяненко», Краснодар, 28–30 мая 2001 г. — Краснодар: Сов. Кубань, 2001. — С. 329–336.
- Sivolar Yu., Bonner J. Association of chromosomal RNA with repetitive DNA // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. — 1971. — 68, № 2. — P. 387–389.
- Pestsova E., Korzun V., Goncharov N.P., Hammer K., Ganai M.W., Röder M.S. Microsatellite analysis of *Aegilops tauschii* germplasm // *Theor. Appl. Genet.* — 2000. — 101. — P. 100–106.
- Добровольская О.Б., Салина Е.А., Кравцова Л.А., Шапова А.И., Першина Л.А. Идентификация при помощи SSR-анализа серии пшенично-ржаных замещенных линий Саратовская 29/Онохойская и гомозиготных дигамплоидных линий, полученных на их основе // Современные проблемы генетики, биотехнологии и селекции растений: Сб. тез. II Международ. конф. молодых ученых (19–23 мая 2003 г.). — Харьков, 2003. — С. 28–29.
- Röder M.S., Korzun V., Plachke J., Tixier M.-H., Leroy P., Ganai M.W. A microsatellite map of wheat // *Genetics*. — 1998. — 149. — P. 2007–2023.
- Доменюк В.П., Белоусов А.А., Сиволап Ю.М. Эффективность отбора по ДНК-маркерам QTL's кукурузы // Зб. матеріалів II Міжнарод. конф. — Одеса, 1998. — С. 16.
- Бальвинская М.С., Брик А.Ф., Дробыш О.Р., Сиволап Ю.М. ПЦР-анализ украинских ячменей для молекулярно-генетической характеристики и каталогизации сортов на основе ДНК-маркеров // *Геном растений: Сб. тез. IV Международ. конф.* (Одесса, 10–13 июня 2003 г.) — Одесса, 2003. — С. 10.
- Бильданова Л.Л., Салина Е.А., Першина Л.А. Изучение особенностей рекомбинации ядерного генома у беккроссных потомков ячменно-пшеничных гибридов

- Hordeum vulgare* L. ($2n = 14$) × *Triticum aestivum* L. ($2n = 42$) с использованием SSR-анализа // Генетика. — 2003. — **39**, № 12. — С. 1673—1679.
16. Sourdille P., Tavaud M., Charmet G., Bernard M. Transferability of wheat microsatellites to diploid Triticea species carrying the A, B, and D genomes // Theor. Appl. Genet. — 2001. — **103**. — P. 346—352.
 17. Сечняк А.Л., Симоненко В.К. Цитогенетика гибридов твердой пшеницы (*Triticum durum* Desf.) с *Aegilops caudata* L. // Цитология и генетика. — 1999. — **33**, № 4. — С. 49—55.
 18. Авсенин В.И., Моцный И.И., Рыбалка А.И., Фаим В.И. Гибриды *Aegilops cylindrica* Host. с *Triticum durum* Desf. и *T. aestivum* L. // Цитология и генетика. — 2003. — **37**, № 1. — С. 11—17.
 19. Han F.P., Fedak G., Ouellet T., Liu B. Rapid genomic changes in interspecific and intergeneric hybrids and allopolyploids of Triticeae // Genome. — 2003. — **46**. — P. 716—723.
 20. Святашев С.К., Трунова С.А., Вершинин А.В., Першина Л.А., Шумный В.К. Молекулярный анализ геномов отдаленных гибридов злаков // Генетика. — 1992. — **28**, № 2. — С. 43—51.
 21. Трубачева Н.В., Салина Е.А. и др. Изучение характера интрогрессии генетического материала ячменя в геноме аллоплазматических линий пшеницы (*Hordeum geniculatum* All. / *Triticum aestivum* L.) с помощью RAPD-анализа // Генетика. — 2003. — **39**, № 6. — С. 791—795.
 22. Использование ПЦР-анализа в генетико-селекционных исследованиях : Науч.-метод. руководство / Под ред. Ю.М. Сиволапа. — К.: Аграр. наука, 1998. — 156 с.
 23. Devos K.M., Bryan G.J., Collins A.J., Stephenson P. Application of two microsatellite sequences in wheat storage proteins as molecular markers // Theor. Appl. Genet. — 1995. — **90**. — P. 247—252.
 24. Сиволап Ю.М., Чеботарь С.В., Топчиева Е.А., Корзун В.Н., Тоцкий В.Н. Исследование молекулярно-генетического полиморфизма сортов *Triticum aestivum* L. с помощью RAPD- и SSRP-анализа // Генетика. — 1999. — **35**, № 12. — С. 1665—1673.

Поступила 15.01.05