

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
ВСЕРОССИЙСКИЙ ИНСТИТУТ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ
РАСТЕНИЙ ИМЕНИ Н.И. ВАВИЛОВА» (ВИР)

На правах рукописи

Поротников
Игорь Вадимович

**Комплексный анализ образцов гексаплоидной пшеницы из коллекции ВИР,
различающихся по признаку скрещиваемости с рожью**

Специальности: 1.5.7 – Генетика
1.5.20 – Биологические ресурсы

Диссертация
на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук
Митрофанова О.П.

Санкт-Петербург – 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	5
ВВЕДЕНИЕ.....	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	11
1.1 Классическая генетика о скрещиваемости пшеницы с рожью.....	11
1.1.1 Географическое распространение скрещиваемой с рожью пшеницы.....	11
1.1.2 Гибридологический анализ признака «скрещиваемость пшеницы с рожью» и локализация контролирующих его генов.....	12
1.2 Молекулярно-генетические исследования скрещиваемости пшеницы с рожью.....	16
1.2.1 Биоинформатические ресурсы для картирования генов мягкой пшеницы.....	16
1.2.2 Молекулярно-генетическое картирование гена <i>SKr</i> и эффективность сцепленных с ним ДНК-маркеров в контроле передачи признака высокой скрещиваемости с рожью.....	18
1.2.3 Локализация гена <i>Kr1</i> и анализ его функции.....	23
1.2.4 Синтетическая гексаплоидная пшеница – источник новых локусов скрещиваемости с рожью.....	27
1.3 Рожь посевная как ценный ресурс для обогащения генофонда мягкой пшеницы.....	27
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	31
2.1 Растительный материал.....	31
2.2 Геномные сборки мягкой пшеницы, использованные в исследовании.....	33
2.3 Оценка пшеницы по скрещиваемости с рожью.....	34
2.4 Методы <i>in silico</i>	34
2.5 Молекулярный скрининг.....	36
2.6 Статистическая обработка данных.....	42
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.....	43
3.1 Оценка отдельных растений образцов мягкой пшеницы и синтетической гексаплоидной пшеницы по скрещиваемости с рожью посевной.....	43
3.2 Молекулярный скрининг гексаплоидной пшеницы коллекции ВИР с помощью описанных в литературе маркеров, сцепленных с геном <i>SKr</i>	51
3.2.1 Характеристика растений 105 образцов мягкой пшеницы с известной скрещиваемостью с рожью.....	52
3.2.2 Поиск потенциально совместимых с рожью растений среди 108 образцов стародавней мягкой пшеницы из стран Азии.....	61
3.2.3 Характеристика растений 27 образцов синтетической гексаплоидной пшеницы.....	71

3.3 Разработка полиморфных SSR-маркеров, ассоциированных с генами <i>SKr</i> и <i>Kr1</i>	74
3.3.1 Определение участков с локализацией генов <i>SKr</i> и <i>Kr1</i> в референсном геноме Chinese Spring (IWGSC CS RefSeq v2.1)	76
3.3.2 Поиск SSR-локусов, разработка и апробация специфичных праймеров.....	78
3.3.3 Характеристика SSR-локусов.....	80
3.3.4 Диагностическая эффективность аллелей SSR-локусов в идентификации генотипов мягкой пшеницы с высокой/низкой скрещиваемостью с рожью.....	82
3.3.5 Совместный учет аллельного состава локусов, связанных с генами <i>SKr</i> и <i>Kr1</i> , для выявления генотипов с высокой/низкой скрещиваемостью с рожью.....	84
3.4 Поиск генов-кандидатов на роль <i>Kr1</i> и <i>SKr</i>	88
3.4.1 Анализ <i>in silico</i> генов-кандидатов на роль <i>Kr1</i>	89
3.4.2 Анализ <i>in silico</i> генов-кандидатов на роль супрессора <i>SKr</i>	96
3.5 Формирование эталонной (референсной) коллекции по признаку «скрещиваемость пшеницы с рожью»	100
3.5.1 Общая характеристика формируемой эталонной коллекции.....	101
3.5.2 Разнообразие 78 генотипов по признаку скрещиваемости пшеницы с рожью и аллелям локусов, сцепленных с геном <i>SKr</i>	101
3.5.3 Характеристика растений (генотипов) эталонной коллекции по аллелям SSR-локусов, находящихся на участках локализации генов <i>SKr</i> и <i>Kr1</i>	105
3.5.4 Характеристика 78 генотипов по аллелям генов других хозяйственно-ценных признаков.....	107
3.5.5 Структура генетического разнообразия эталонной коллекции по скрещиваемости пшеницы с рожью и информация о ней.....	120
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	125
ВЫВОДЫ.....	128
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	130
СПИСОК ЛИТЕРАТУРНЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	132
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	152
Приложение 1 – Первый набор из 105 образцов (392 растений) мягкой пшеницы с известной скрещиваемостью с рожью посевной, отобранных по литературе для апробации ДНК-маркеров гена <i>SKr</i>	152
Приложение 2 – Второй набор из растений 108 стародавних образцов мягкой пшеницы (страны Азии) с неизвестной скрещиваемостью с рожью посевной.....	161

Приложение 3 – Третий набор из растений 27 образцов синтетической гексаплоидной пшеницы коллекции ВИР с известной скрещиваемостью с рожью посевной, отобранных по литературе для апробации ДНК-маркеров гена <i>SKr</i>	170
Приложение 4 – Праймеры для идентификации аллелей генов <i>Rht-B1</i> и <i>Rht-D1</i>	173
Приложение 5 – Праймеры для выявления аллелей генов <i>Vrn-A1</i> , <i>Vrn-B1</i> и <i>Vrn-D1</i>	176
Приложение 6 – Выборка из 78 растений (генотипов) пшеницы с различной скрещиваемостью с рожью для генотипирования по SSR-локусам, ассоциированным с генами <i>SKr</i> и <i>Kr1</i>	177
Приложение 7 – Паспортные данные об образцах, ставших родоначальниками линий для эталонной коллекции по признаку скрещиваемости пшеницы с рожью.....	179
Приложение 8 – Характеристика изученных аллелей генов <i>Rht-B1</i> и <i>Rht-D1</i> мягкой пшеницы.....	183
Приложение 9 – Апробация аллель-специфичных маркеров для аллелей генов <i>Rht-B1</i> и <i>Rht-D1</i> , несущих нонсенс мутации.....	184
Приложение 10 – Характеристика 78 линий эталонной коллекции по аллельному составу локусов, расположенных вблизи генов <i>SKr</i> и <i>Kr1</i>	185
Приложение 11 – Характеристика 78 линий эталонной коллекции по аллельному составу генов <i>Rht-B1</i> , <i>Rht-D1</i> , <i>Vrn1</i> и <i>Ppd-D1</i>	188

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ACS12 – 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylate Synthase 12
AFLP – Amplified Fragment Length Polymorphism
BAC – Bacterial Artificial Chromosome
CAPS – Cleaved Amplified Polymorphic Sequences
CS – Chinese Spring
dCAPS – derived Cleaved Amplified Polymorphic Sequences
DEF – Differentially Expressed Fragment
DHs – Doubled Haploids
dNTPs – Deoxynucleoside triphosphates
ELMO – Engulfment and Cell Motility
EST – Expressed Sequence Tag
IAAS – Institute of Advanced Agricultural Sciences
IWGSC – International Wheat Genome Sequencing Consortium
MST – Monosaccharide Transporter
NCBI – National Center for Biotechnology Information
OSB2 – Organellar Single-stranded DNA-Binding protein 2
PAM16 – Presequence translocase-Associated Motor 16
QTL – локус количественного признака (Quantitative Trait Locus)
RFLP – Restriction Fragment Length Polymorphism
SNP – Single Nucleotide Polymorphism
SSR – Simple Sequence Repeat
STP – Sugar Transport Protein
TaDEF - *Triticum aestivum* Differentially Expressed Fragment
АС-ПЦР – аллель-специфичная ПЦР
МП – мягкая пшеница
п.н. – пара нуклеотидов
ПЦР – полимеразная цепная реакция
СГП – синтетическая гексаплоидная пшеница

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность и степень разработанности темы исследования

Пшеница – одна из важнейших сельскохозяйственных культур. В 2024 г. в мире собрано 798,5 млн. тонн ее зерна. Россия, среди стран-производителей, занимает третье место – 82,8 млн. тонн (FAOSTAT, 2024). Современные сорта мягкой пшеницы (далее МП) *Triticum aestivum* L. ($2n = 6x = 42$, VBAADD) обладают недостаточной устойчивостью к различным неблагоприятным факторам внешней среды (Reif et al., 2005; Kahiluoto et al., 2019). Часто используемым для МП донором новых аллелей генов селекционно-ценных признаков является рожь посевная *Secale cereale* L. ($2n = 2x = 14$, RR). Широкое распространение в мире получили сорта МП с ржаными транслокациями T1BL.1RS и T1AL.1RS, несущие гены устойчивости к грибным патогенам (Rabinovich, 1998; Moskal et al., 2021). Однако потенциал генетического разнообразия ржи, исключая транслокации хромосомы 1R, в селекции МП практически не используется (Moskal et al., 2021).

Еще одним источником полезных аллелей генов для МП служит синтетическая гексаплоидная пшеница (далее СГП), относящаяся к искусственному роду $\times$ *Aegilotriticum* P. Fourn (Bhatta et al., 2018). Она получена от скрещивания различных представителей тетраплоидной пшеницы, в том числе сортов *Triticum durum* Desf. ($2n = 4x = 28$, VBAA), с дикорастущими формами *Aegilops tauschii* (Coss.) Schmalh ($2n = 2x = 14$, DD), внесшими когда-то геном D в МП, и последующим удвоением числа хромосом у гибридных форм. Эта пшеница имеет тот же геномный состав, что и МП, и хорошо с ней скрещивается.

Успешным скрещиваниям МП с рожью посевной препятствует прогамная несовместимость (Perschina, Trubacheeva, 2017), выражающаяся в ингибировании роста пыльцевых трубок (Lange, Wojciechowska, 1976). У МП скрещиваемость с рожью контролируют гены *Kr1-Kr4* (Crossability with Rye and *Hordeum* and *Aegilops* spp.) и *SKr* (Suppressor of crossability), а также другие локусы (Lein, 1943; Tixier et al, 1998; Bertin et al., 2009). Доминантные аллели этих генов отвечают за проявление признака несовместимости, а рецессивные (нефункциональные), при сочетании в одном генотипе обеспечивают завязываемость более 50% гибридных зерновок в колосе пшеницы от числа кастрированных и опыленных пылью ржи цветков. У СГП наряду с *SKr* (локус *QCa.caas.5B*) и *Kr4* (*QCa.caas.1A*) обнаружены еще три других локуса (Zhang et al., 2011).

Из названных выше генов у МП основное влияние на скрещиваемость оказывают *SKr* и *Kr1* (Lein, 1943; Tixier et al, 1998; Bertin et al., 2009). Для гена *SKr*, локализованного в хромосоме 5BS, разработаны сцепленные с ним ДНК-маркеры cfb341, gene12, TGlc2 и gene13, с помощью которых можно контролировать передачу участка с этим геном от одного генотипа в другой

(Alfares et al., 2009; Bouguennec et al., 2018). Однако их эффективность как диагностических при скрининге образцов *ex situ* коллекций еще не установлена. Ген *Kr1*, расположен в хромосоме 5BL между EST-SSR-локусами *Xw5145* и *Xw9340* и ассоциирован с SSR-маркером *Xgwm213* (Bertin et al., 2009). В 2016 году данный ген был секвенирован (Cai et al., 2016 a, b), однако дальнейших исследований по его верификации опубликовано не было. Ген *SKr* не клонирован, отсутствуют данные о его взаимодействии с геном *Kr1* и совместном влиянии на признак (Alfares et al., 2009; Bertin et al., 2009). Кроме того, узок круг источников (сортов и линий), характеризующихся высокой скрещиваемостью с рожью. В основном в мире это сорта МП Chinese Spring (далее CS) из Китая и Fukuho Komugi из Японии.

С учетом изложенного выше **целью нашего исследования стало:** применить молекулярно-генетические подходы для поиска и характеристики генотипов гексаплоидной пшеницы, проявляющих высокую скрещиваемость с рожью, создать базу для дальнейших молекулярно-генетических исследований этого признака и использования охарактеризованного растительного материала в решении фундаментальных проблем и селекции.

Задачи исследования:

1. Основываясь на данных литературы, из коллекции ВИР отобрать образцы МП и СГП, различающиеся по скрещиваемости с рожью. Путем проверки отдельных растений этих образцов сформировать выборки генотипов с высокой/низкой скрещиваемостью для апробации существующих и разработки новых ДНК-маркеров.

2. На сформированных выборках растений (генотипов) определить диагностическую эффективность описанных в литературе ДНК-маркеров, сцепленных с геном *SKr*, в выявлении генотипов с высокой/низкой скрещиваемостью с рожью. Охарактеризовать разнообразие аллелей маркерных локусов.

3. Разработать SSR-маркеры для участков локализации генов *SKr* (хромосома 5BS) и *Kr1* (хромосома 5BL), определить ассоциацию аллелей SSR-локусов с признаком скрещиваемости с рожью и описать выявленное разнообразие аллелей SSR-локусов на репрезентативной выборке генотипов.

4. Провести анализ/поиск *in silico* генов-кандидатов на роль *Kr1* и супрессора скрещиваемости *SKr*.

5. Из охарактеризованных растений (генотипов), отобранных из образцов МП различного географического происхождения и СГП, отражающих выявленную изменчивость признака скрещиваемости пшеницы с рожью, а также аллельное разнообразие маркерных локусов, ассоциированных с данным признаком, сформировать эталонную (референсную) коллекцию. Провести комплексный анализ включенных в нее генотипов.

Научная новизна. На сформированной репрезентативной выборке растений (генотипов) образцов МП и СГП коллекции ВИР, охарактеризованных по скрещиваемости пшеницы с рожью, апробированы описанные в литературе ДНК-маркеры гена-супрессора *SKr* и разработаны SSR-маркеры для участка его локализации, а также участка локализации гена *Kr1*. Определена диагностическая эффективность аллелей маркерных локусов в выявлении генотипов с высокой и низкой скрещиваемостью с рожью. Описано разнообразие гексаплоидной пшеницы по аллелям маркерных локусов, выделены гаплотипы, показана их приуроченность к определенным географическим регионам в Азии.

Теоретическая и практическая значимость работы. Определены физические участки локализации генов *Kr1* и *SKr*. На роль *SKr* предложен ген, кодирующий фермент, гомологичный S-рецепторной лектиновой протеинкиназе G-типа (TraesLAC5B03G02744180), которая может участвовать в распознавании пыльцевых трубок. Получены новые знания о характере вариабельности SSR-локусов (*Xvir1*, *Xvir9* и *Xvir10*), ассоциированных со скрещиваемостью пшеницы с рожью и расположенных вблизи генов *SKr* и *Kr1*. Увеличена насыщенность и информативность физической карты хромосомы 5B за счет разработанных SSR-маркеров.

Использование ДНК-маркеров (cfb341, gene12, TGlc2), сцепленных с геном *SKr*, позволяет сократить время и облегчить поиск МП с высокой/низкой скрещиваемостью с рожью.

Посредством формирования эталонной коллекции из 78 растений (генотипов), охарактеризованных по скрещиваемости с рожью и разнообразию аллелей маркерных локусов, связанных с генами *SKr* и *Kr1*, создана база для дальнейших молекулярно-генетических исследований гексаплоидной пшеницы по этому признаку. Для расширения возможностей использования референсных генотипов в решении фундаментальных научных проблем и селекционных задач проведен их комплексный анализ. Они охарактеризованы по аллелям генов *Vrn1*, *Ppd-D1*, *Rht-B1* и *Rht-D1*, при этом для идентификации аллелей двух последних генов разработаны CAPS- и dCAPS-маркеры, включенные в предложенную нами систему ДНК-маркеров.

Методология и методы исследования. В диссертации использовали метод гибридизации МП и СГП с рожью. Методы *in silico* (поиск SSR-локусов и генов-кандидатов, дизайн праймеров) и молекулярно-генетического анализа (экстракция ДНК, полимеразная цепная реакция (ПЦР), рестрикционный анализ, электрофорез в агарозном и полиакриламидном гелях). Обработку результатов по скрещиваемости пшеницы с рожью и генотипированию осуществляли с помощью базовых и многомерных методов статистики.

Положения, выносимые на защиту:

1. На участках с локализацией генов *SKr* и *Kr1* выявлены SSR-локусы, аллели которых оказались ассоциированными с признаком скрещиваемости с рожью. Совместный учет аллельного состава этих SSR-локусов, а также других маркерных локусов, сопряженных с указанными генами, позволяет точнее выявлять формы МП с высокой и низкой скрещиваемостью с рожью.

2. Увеличена насыщенность и информативность физической карты хромосомы 5В благодаря разработанным шести SSR-маркерам для участков с генами *SKr* и *Kr1*.

3. Молекулярно-генетическими исследованиями подтверждено представление о широком распространении совместимых с рожью сортов стародавней МП в различных провинциях Китая, а также показано присутствие их среди сортов стародавней МП из Афганистана, Пакистана и Монголии.

4. Сформирована эталонная (референсная) коллекция, максимально отражающая выявленную изменчивость МП и СГП по признаку скрещиваемости пшеницы с рожью, географическое и аллельное разнообразие маркерных локусов, ассоциированных с высокой/низкой скрещиваемостью и расположенных на участках локализации генов *SKr* и *Kr1*. Коллекция предназначена для проведения дальнейших исследований по генетике рассматриваемого признака и применения в селекции.

Степень достоверности и апробация результатов. Исследование выполнено с использованием классических и современных методов, с применением высокотехнологичного оборудования. Воспроизводимость и статистическая обработка данных подтверждают достоверность полученных результатов. Иллюстративные материалы, таблицы и приложения подкрепляют сделанные выводы.

Результаты диссертационной работы были представлены на конференциях и школе молодых ученых: 6-я Международная научная конференция «Генетика, геномика, биоинформатика и биотехнология растений» (PlantGen2021), Новосибирск, 2021; Мульти-школа Молодых Ученых, объединяющая 13-ую Школу «Системная биология и Биоинформатика» SBB-2021 и Школу молодых ученых «Генетика, геномика, биоинформатика и биотехнология растений», Новосибирск, 2021; III Международная научно-практическая конференция «Клеточная биология и биотехнология растений. Минск, Беларусь, 2022; Всероссийская конференция «Генетические ресурсы растений для генетических технологий: к 100-летию Пушкинских лабораторий ВИР», Санкт-Петербург, 2022; V Вавиловская международная конференция, посвященная 135-летию со дня рождения Н.И. Вавилова», Санкт-Петербург, 2022; Международная научная конференция «Селекция и генетика культурных растений – 2023», посвященная 100-летию кафедры генетики, селекции и семеноводства РГАУ-МСХА имени К. А.

Тимирязева. Москва, 2023; Международный Конгресс «VIII Съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров, посвященный 300-летию российской науки и высшей школы». Саратов, 2024; Международная конференция «ВИР – 130: Генетические ресурсы растений», Санкт-Петербург, 2024.

Публикации. Результаты исследования опубликованы в пяти статьях в журналах, рекомендованных ВАК (РФ) и входящих в международную систему цитирования Scopus.

Личный вклад автора. Основные результаты, изложенные в диссертации, получены автором самостоятельно в лаборатории молекулярной селекции и ДНК-паспортизации, отдела биотехнологии ВИР. Автор лично осуществлял анализ литературных данных по теме работы, проведение полевых опытов, фенотипическую оценку растений, проведение лабораторных исследований молекулярными методами, обработку экспериментальных данных, подготовку статей и докладов на конференциях. Планирование экспериментов и обсуждение результатов осуществлялось совместно с научным руководителем д.б.н. О.П. Митрофановой и к.б.н. О.Ю. Антоновой, заведующей лабораторией молекулярной селекции и ДНК-паспортизации. Материал для исследования предоставлен сотрудниками отдела генетических ресурсов пшеницы ВИР: В.П. Пюккенен и к.б.н. А.Г. Хакимовой.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 190 страницах. Состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов и обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, приложений. Диссертационная работа включает 25 таблиц, 21 рисунок и 11 приложений. Список литературы содержит 195 источников, из них – 172 на иностранных языках.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Классическая генетика о скрещиваемости пшеницы с рожью

1.1.1 Географическое распространение скрещивающейся с рожью пшеницы

Еще в начале XX-го в. было отмечено, что сорт мягкой пшеницы С. J. 6223 обладал высокой (более 50%) завязываемостью гибридных зерновок после опыления рожью (Backhouse, 1916). Эта пшеница происходила из восточной провинции Китая – Сычуань. По скрещиваемости с рожью С. J. 6223 отличался от Европейских сортов пшеницы, которые практически не завязывали гибридных зерновок при опылении рожью. Было выдвинуто предположение, что и другие образцы МП из Восточной Азии, возможно, могут скрещиваться с рожью (Lein, 1943).

В последующие годы исследователями из разных стран был накоплен большой объем данных о скрещиваемости МП с рожью. Обобщение результатов многих исследований (таблица 1.1) позволяет заключить, что мягкая пшеница в целом плохо скрещивается с рожью (Zeven., 1987; Поротников и др., 2020).

Таблица 1.1 – Распределение образцов пшеницы по эффективности образования гибридных зерновок при опылении рожью (Поротников и др., 2020)

Уровень завязываемости гибридных зерновок (интервалы взяты из работы А. Lein (1943))				Всего образцов	Литературный источник
0-10,0%	10,1-30,0%	30,1-50,0%	50,1% и более		
48	2	—	—	50	Рехметулин, 1987
97	14	6	9	126	Ригин, 1976
3	3	1	10	17	Суриков, Киссель, 1985
105	20	1	5	131	Zheng-Song et al., 1998
53	3	3	2	61	Singh, Sethi, 1991
29	23	11	34	97	Rui et al., 1995
577	27	4	6	614	Zeven, 1987 (личные данные)
477	67	29	34	607	Zeven, 1987 (цитируемые данные)
1442 (81,6%)	166 (9,3%)	59 (3,2%)	100 (5,9%)	1767 (100%)	Всего (доля в % от общего числа образцов)

Образцы с высокой скрещиваемостью в среднем выявляются в изученных выборках с частотой 5,9%, причем в определенных географических регионах (Lein, 1943; Писарев, 1960; Ригин, 1976; Lange, Wojciechowska, 1976; Falk, Kasha, 1981; Zeven, 1987). Так, сделанная в ВИР оценка сортов мягкой пшеницы различных агроэкологических групп показала, что наиболее высокую способность завязывать гибридные зерновки проявляли сорта китайского (52,5%) и восточносибирского (53,7%) экотипов (Писарев, 1960; Ригин, 1976).

Считают, что частое выявление образцов с высокой скрещиваемостью среди восточноазиатских сортов пшеницы, по всей видимости связано с тем, что в этом регионе в

процессе эволюции не сформировалась генетическая система, препятствующая скрещиваемости пшеницы с рожью, поскольку ареал ржи был ограничен исключительно районами Европы и Западной Азии, и с этой культурой пшеница в Юго-Восточной Азии вместе не произрастала (Lein, 1943; Riley, Chapman, 1967; Ригин, 1976).

Показано, что на успех скрещиваемости пшеницы с рожью влияет целый ряд факторов, в том числе видовая принадлежность отцовских и материнских генотипов. Наиболее высокий процент завязываемости гибридных зерновок наблюдали у гексаплоидных пшениц: *T. aestivum*, *T. spelta* L., *T. compactum* Host; средний – у тетраплоидных *T. turgidum* L, *T. durum*; и самый низкий – у диплоидных *T. monococcum* L. и *T. boeoticum* Boiss. Варьировала также успешность применения разных видов ржи в качестве опылителей: высокая скрещиваемость при опылении пыльцой диплоидных видов *S. cereale* и *S. vavilovii* Grossh., низкая – тетраплоидного вида *S. fragile* M. Bieb. (Ригин, 1965, 1976; Суриков, Киссель, 1985; Рехметулин, 1987). Различные аспекты проблемы скрещиваемости пшеницы с рожью и другими видами подробно рассматриваются Б. В. Ригиным (1976) и M. Molnár-Láng (2015).

Таким образом, успех скрещиваемости пшеницы с рожью сильно зависит от видовой принадлежности скрещиваемых образцов. Наиболее высокие показатели завязавшихся гибридных зерновок характерны для образцов мягкой пшеницы из Восточной Азии, что связано с особенностями эволюции МП из данного региона.

1.1.2 Гибридологический анализ признака «скрещиваемость пшеницы с рожью» и локализация контролирующих его генов

Первые сведения о наследовании признака «высокая скрещиваемость мягкой пшеницы с рожью» были получены немецким ученым А. Lein (1943). В скрещиваниях китайского сорта Chinese 466 с высокой (57,3%) завязываемостью гибридных зерновок и сортов Marquis (Канада), Peragis и Blausamtiger Kolben (оба – Германия), имеющими завязываемость 1,9%, 2,5% и 12,7% соответственно, было установлено доминирование в F₁ низкой завязываемости. Дальнейший анализ гибридов поколения F₃ выявил наличие двух генов, контролирующих данный признак. Аллельные пары факторов (генов) были обозначены как *Kr1-kr1* (Kreuzbarkeitsgene, гены способности к скрещиванию) и *Kr2-kr2*, а генотипы родительских сортов были определены как *kr1kr1kr2kr2* (Chinese 466), *Kr1Kr1Kr2Kr2* (Marquis и Peragis) и *Kr1Kr1kr2kr2* (Blausamtiger Kolben). Было также отмечено, что доминантный аллель *Kr1* обладает более сильным ингибирующим эффектом роста пыльцевых трубок, чем *Kr2*, а различные генотипы характеризуются следующим процентом завязываемости гибридных зерновок: *Kr1Kr1Kr2Kr2* – до 10%, *Kr1Kr1kr2kr2* – 10-30%, *kr1kr1Kr2Kr2* – 30-50%, *kr1kr1kr2kr2* – более 50% (Lein, 1943).

Для установления хромосомной локализации генов *Kr1* и *Kr2* была использована серия из 21 линии с межсортным замещением хромосом Chinese Spring/Норе (Sears et al., 1957; Riley, Chapman, 1967). При опылении диплоидной рожью у Chinese Spring (далее CS) наблюдали высокую (74,3%) завязываемость гибридных зерновок, а сорт Норе практически таких зерновок не образовал. Существенное снижение уровня завязываемости зерновок было выявлено у линий с замещенными хромосомами 5A и 5B (рисунок 1.1). Полученные данные навели R. Riley и V. Chapman на мысль, что замена хромосом 5B вызывает большую редукцию уровня скрещиваемости, чем хромосом 5A. Ген *Kr1* был локализован в хромосоме 5B, а *Kr2* – 5A (Riley, Chapman, 1967). Чтобы ответить на вопрос, поддерживают ли рецессивные аллели *Kr*-генов межродовую совместимость, или, напротив, доминантные аллели ингибируют скрещиваемость, авторы процитированной работы протестировали линию CS nulli-5B-tetra-5D, у которой отсутствовали хромосомы 5B, но присутствовала в учетверенной дозе гомеологичная ей хромосома 5D. Эта линия, как и моносомик CS по хромосоме 5B, формировала зерновки при самоопылении. При опылении рожью, в первом случае 116 цветков дали 67 гибридных зерновок (завязываемость 57,8%), во втором, при опылении 261 цветка было получено 184 зерновки (70,5%). Другими словами, отсутствие хромосом 5B и, соответственно, пары рецессивных аллелей *kr1* или изменение их дозы, не снижало уровень завязываемости гибридных зерновок (рисунок 1.1). Из этого авторы сделали вывод, что рецессивные аллели не активны, доминантные аллели гена *Kr1* действуют как ингибиторы скрещиваемости. Поскольку линии CS/Норе 5A и CS/Норе 5B, в отличие от сорта Норе, не теряли полностью способность образовывать гибридные зерновки при опылении рожью, эффекты ингибиторов *Kr1* и *Kr2*, по мнению авторов, были или аддитивными, или комплементарными.

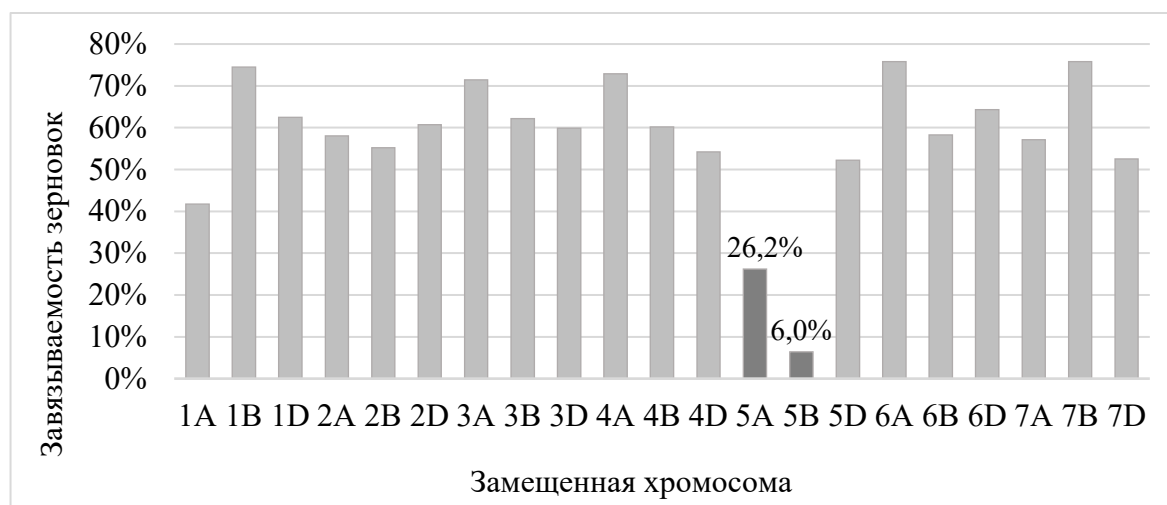


Рисунок 1.1 – Скрещиваемость с рожью линий мягкой пшеницы с межсортным замещением хромосом серии Chinese Spring/Норе (по данным R. Riley и V. Chapman (1967))

Следует отметить, что о возможном кумулятивном действии генов *Kr1* и *Kr2* ранее сообщил A. Lein (1943): гетерозиготные генотипы *Kr1kr1kr2kr2* и *kr1kr1Kr2kr2* имели более 10% успешных скрещиваний с рожью, тогда как часть растений с генотипами *Kr1Kr1Kr2kr2* и *Kr1kr1Kr2Kr2* не завязала ни одной гибридной зерновки. Впоследствии это предположение подтвердили результаты D. E. Falk и K. J. Kasha (1983), при этом было отмечено, что рецессивные аллели *kr1* и *kr2* кумулятивным эффектом не обладали.

Для картирования гена *Kr1* в хромосоме 5B использовали гибриды, полученные от скрещивания замещенной линии CS/Норе 5B, имеющей низкую завязываемость зерновок при опылении рожью (хромосома 5B от сорта Норе несет доминантный *Kr1*), с дителосомной линией CS DT5BL, у которой хромосома 5B была представлена парой телоцентриков по ее длинному плечу, а короткое плечо отсутствовало (Lange, Riley, 1973). По способности завязывать гибридные зерновки линия CS DT5BL не отличалась от сорта CS. Специфичный кариотип этой линии дал возможность отслеживать рекомбинацию длинного и короткого плеча хромосомы 5B с помощью цитологических методов. В результате анализа расщепления поколения F₂ и анализирующих скрещиваний установлена локализация гена *Kr1* на длинном плече хромосомы 5B, со средней частотой рекомбинации между *Kr1* и центромерой в $11,45 \pm 3,0\%$. Локализацию гена *Kr1* в длинном плече хромосомы 5B подтвердили L. A. Sitch с соавторами (1985), однако ген располагался на большем расстоянии от центромеры – $44,8 \pm 3,28\%$ рекомбинации.

Ген *Kr2* картировали в хромосоме 5A у гибридов, полученных от скрещивания CS с линией CS/*T. spelta* 5A, у которой пара хромосом 5A мягкой пшеницы замещена на пару хромосом 5A от *T. spelta* (Sitch et al., 1985). Ген *Kr2* оказался сцепленным (частота рекомбинации $4,8 \pm 4,66\%$) с геном *Vrn1* (Response to Vernalization), определяющим тип развития растений пшеницы, и был расположен дистальнее гена *Q* (Squarehead/spelt), обуславливающего образование спельтоидного типа колоса, на расстоянии $38,1 \pm 10,60\%$ рекомбинации от него (Sitch et al., 1985). Примерно одинаковое положение *Kr1* и *Kr2* по отношению к центромере авторы рассматривали как доказательство в пользу гомеоаллельности этих генов. Кроме того, в данной работе статистически значимые различия по завязываемости гибридных зерновок были выявлены у эуплоидных растений сорта CS и у полученных на его основе моносомных моно-5B и дителосомных линий DT5BL. Эуплоидные растения CS завязывали в два раза меньше зерновок, чем растения двух упомянутых линий. Авторы связали этот эффект с уменьшением дозы короткого плеча хромосомы 5B и предположили присутствие в нем супрессора скрещиваемости (Sitch et al., 1985). Позднее наличие такого супрессора, получившего название *SKr* (Supressor of crossability), было доказано молекулярно-генетическим картированием (Tixier et al., 1998).

Еще один ген, *Kr3*, был картирован у гексаплоидной пшеницы в хромосоме 5D (Krolow, 1970). У доминантного аллеля данного гена эффект ингибирования скрещиваемости был слабее,

чем у *Kr1* и *Kr2*. При гибридизации с рожью влияние *Kr3* зачастую оказывалось статистически незначимым, и в целом ряде работ (Riley, Chapman, 1967; Falk, Kasha, 1983; Sitch et al., 1985; Zheng et al., 1992) участие хромосомы 5D в контроле завязываемости пшенично-ржаных гибридных зерновок подтверждено не было. Однако действие *Kr3*, как ингибитора межродовой совместимости, удалось продемонстрировать при гибридизации с *Hordeum bulbosum* L. на линиях CS/Норе 5B, CS/Норе 5A и CS/Норе 5D, получивших от сорта-донора Норе хромосомы с доминантными аллелями генов *Kr1*, *Kr2* и *Kr3*, соответственно (Snape et al., 1979). Снижение скрещиваемости с *H. bulbosum* у данных линий происходило до 0,0 (CS/Норе 5B), 4,9 (CS/Норе 5A) и 9,9% (CS/Норе 5D).

Ген *Kr4* был обнаружен анализом моносомной линии мягкой пшеницы J-11 из провинции Сычуань, Китай. Данная линия показала почти 100% завязываемость гибридных зерновок при опылении рожью (Zheng et al., 1992). Наследование этого признака изучали у гибридов F₁ между линией J-11 и моносомными линиями сортов Abbondanza (скрещиваемость с рожью менее 2,13%, предположительный генотип *Kr1Kr1Kr2Kr2*) и Chinese Spring (генотип *kr1kr1kr2kr2*). В первом случае присутствие хромосом 1A, 5A и 5B от линии J-11 оказывало положительное влияние на успех скрещивания с рожью, в то время как у гибридов с моносомиками CS для тех же хромосом наблюдали снижение скрещиваемости. При этом влияние хромосомы 1A на завязываемость зерновок оказалось сильнее, чем 5A (*kr2*), но слабее, чем 5B (*kr1*). Это позволило авторам сделать вывод о наличии в хромосоме 1A линии J-11 дополнительного гена *kr4*, сходного по действию с *kr1* и *kr2* (Zheng et al., 1992). Точная хромосомная локализация *kr4* пока остается неизвестной.

Таким образом, в контроле скрещиваемости МП с рожью участвуют по меньшей мере четыре гена – *Kr1*, *Kr2*, *Kr3* и *Kr4*, доминантные (функциональные) аллели которых ингибируют рост пыльцевых трубок ржи в завязи пестика МП. По силе действия гены можно расположить как *Kr1*>*Kr4*>*Kr2*>*Kr3*, где наибольший вклад в ингибирование роста пыльцевых трубок оказывает доминантный аллель *Kr1*, а наименьший – *Kr3*. Наличие рецессивных аллелей по всем четырем генам приводит к высокой скрещиваемости с рожью – завязываемости гибридных зерновок более 50%. Был выявлен локус *SKr*, который, как будет установлено с помощью молекулярно-генетических методов, вносит основной вклад в контроль признака, наряду с *Kr1*.

1.2 Молекулярно-генетические исследования скрещиваемости пшеницы с рожью

1.2.1 Биоинформатические ресурсы для картирования генов мягкой пшеницы

Молекулярно-генетическое картирование генов, контролирующих скрещиваемость пшеницы с рожью, стало возможным благодаря созданию молекулярно-генетических карт генома МП, которые существенно расширили возможности для локализации в хромосомах генов и локусов количественных признаков (QTLs). Процесс насыщения карт хромосом ДНК-маркерами шел параллельно с появлением их новых типов (Khlestkina, 2014). RFLP-маркеры были одним из первых инструментов для создания молекулярно-генетических карт МП и локализации на них генов хозяйственно-ценных признаков. Стратегия построения генетических карт базировалась на выявлении групп сцепления, отнесенных к хромосомам отдельных гомеологичных групп (Devos et al., 1992, 1993; Xie et al. 1993; Nelson et al., 1995 a, b); построении консенсусных карт групп хромосом и сравнительных карт хромосом разных видов пшеницы (Liu, Tsunewaki, 1991; Nelson et al., 1995 c). Для картирования использовали межвидовые гибридные популяции. Так, первые молекулярно-генетические RFLP-карты гомеологичных групп хромосом 2, 3, 4, 5 и 7 были построены на основе анализа рекомбинантных инбредных линий поколений F₇ и F₈ – потомков от самоопыления отдельных зерновок гибридов F₂ от скрещивания сорта Opata 85 с синтетической гексаплоидной пшеницей, полученной путем скрещивания тетраплоидной культурной полбы *T. dicoccum* Schuebl. ($2n = 4x = 28$, BBAA) с *Ae. tauschii* с последующим удвоением числа хромосом (Nelson et al., 1995 a, b, c). Использовали также гибриды CS со слабо окультуренной пшеницей *T. spelta* ($2n = 6x = 42$, BBAADD) (Liu, Tsunewaki, 1991), наборы моносомных, нулли-тетрасомных и других анеуплоидных линий сорта CS, моносомную серию французского короткостебельного сорта Courtot, популяцию из 275 двойных гаплоидных линий (DH), созданных через культуру пыльников от реципрокных гибридов F₁ (CS × Courtot) (Cadalen et al., 1997; Felix et al., 1996), и др.

Существенный скачок в картировании генов и QTLs пшеницы был сделан благодаря появлению ПЦР-маркеров, из которых наиболее часто для картирования применяли SSR-маркеры, сочетающие значительный уровень полиморфизма с хорошей воспроизводимостью результатов. Одна из первых SSR-карт генома мягкой пшеницы была разработана на основе анализа тех же рекомбинантных инбредных линий F₈, которые использовали в работе J. C. Nelson с соавторами (Nelson et al., 1995 a, b, c); это позволило интегрировать микросателлиты в уже существующие RFLP-карты хромосом (Röder et al., 1998). Позднее была получена интегральная генетическая карта хромосом мягкой пшеницы, объединившая результаты картирования SSR-локусов такими консорциумами и объединениями, как IWMMN (International Wheat Microsatellites Mapping Network), WMC (Wheat Microsatellite Consortium) и USWBSI (US Wheat

and Barley Scab Initiative). Карта насчитывает 1235 маркеров со средним генетическим расстоянием между ними в 2,2 cM (Somers et al., 2004). Была создана также цифровая общедоступная база данных GrainGenes (<https://wheat.pw.usda.gov/GG3/>), включающая результаты работ разных исследователей по молекулярным маркерам и картам хромосом мягкой пшеницы и других видов трибы Triticeae Dumort. Недавно получила открытый доступ еще одна база данных – Triticeae SSR Database, TriticeaeSSRdb (<http://triticeaessrdb.com/>) в которой представлены SSR-локусы, выявленные в геномах некоторых представителей трибы Triticeae.

В настоящее время для построения карт хромосом широко применяют SNP маркеры (Geng et al., 2026). Процедуру их обнаружения значительно облегчило появление методов секвенирования следующего поколения (NGS – Next generation sequencing), а разработка полногеномных SNP-чипов, например, 90K iSelect (90000 SNP Infinium iSelect) позволила построить карты с наиболее плотным покрытием генома пшеницы (Cabral et al., 2014, Gardner et al., 2016). Создана также консенсусная карта (Wen et al., 2017), объединившая пять ранее изданных SNP карт, включая три перечисленные выше. В общей сложности карта насчитывает 29692 SNP маркера, со средней плотностью 10,21 маркер/cM.

Физические карты хромосом были построены в рамках Международного консорциума по секвенированию генома пшеницы (IWGSC – The International Wheat Genome Sequencing Consortium), при этом карты для каждой хромосомы или её плеча разрабатывались независимо. Первая работа по созданию такой карты была завершена в 2008 г. для хромосомы 3B (Paux et al., 2008), российские учёные также приняли участие в проекте, построив карту для короткого плеча хромосомы 5B (Salina et al., 2018). Наконец, в 2018 г. в рамках IWGSC была опубликована полная эталонная последовательность (IWGSC CS RefSeq v 1.0) генома CS. Эта геномная сборка получила функциональную аннотацию (IWGSC CS RefSeq v2.1) (Zhu et al., 2021). Референсный геном CS является ценным инструментом для физического картирования генов, поиска генов кандидатов, выравнивания данных GBS (Genotyping by Sequencing) для локализации SNP с целью проведения полногеномного анализа ассоциаций (Tong et al., 2024; Rauf et al., 2025).

МП характеризуется крупным геномом, размер которого составляет порядка 17 Gb. Наличие трех гомеологичных субгеномов, а также большой доли повторяющихся последовательностей (около 88% от генома МП) создает большие сложности для его сборки. Важно отметить, что референсный геном CS изначально был получен на основе технологий высокопроизводительного секвенирования коротких прочтений (в первую очередь Illumina), что могло привести к неточностям его сборки (Zhu et al., 2021). Недавно получена высококачественная, близкая к уровню «от теломеры до теломеры» (telomere-to-telomere, T2T) сборка генома CS (CS-IAAS, NCBI #GCA_040256815.2), которую создали S. Liu и соавторы (2025) на основе длинных прочтений с использованием технологий одноцепочечного секвенирования

(PacBio HiFi и/или Oxford Nanopore), что позволило существенно улучшить непрерывность хромосом и точность представления сложных, богатых повторами участков по сравнению с референсным геномом CS (RefSeq v2.1).

Помимо секвенированного генома сорта CS, были получены геномные сборки и для других сортов мягкой пшеницы в рамках международной инициативы “10+ Wheat Genomes Project”, в ходе которой созданы референсные геномы более десяти элитных и стародавних сортов МП (Jagger, Julius, Lancer, Stanley и др.). Это позволило перейти от одного эталонного генома к пангеному мягкой пшеницы и описать структурное и аллельное разнообразие в пределах вида (Walkowiak et al., 2020). Все геномные сборки МП доступны в базе данных NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

1.2.2 Молекулярно-генетическое картирование гена *SKr* и эффективность сцепленных с ним ДНК-маркеров в контроле передачи признака высокой скрещиваемости с рожью

Молекулярно-генетическое картирование гена *SKr*

Основополагающая работа по выявлению *QTLs*, влияющих на скрещиваемость, была выполнена с использованием RFLP-маркеров на популяции из 187 ДН-линий, производных от гибрида CS×Courtot (Tixier et al., 1998). Скрещиваемость родительских форм и всех ДН-линий проверяли путем опыления пылью ржи сорта Dankowskie Nowe, высокий уровень скрещиваемости был подтвержден для CS (95%), низкий – для сорта МП Courtot (10%) (Gay, Bernard, 1994).

Всего в хромосомах 5В и 7А у ДН линий было обнаружено три *QTL* от сорта Courtot, которые подавляли способность скрещиваться с рожью. При этом в хромосомах 5А (*Kr2*) и 5D (*Kr3*) таких локусов выявлено не было. Самый сильный *QTL* находился дистально в коротком плече хромосомы 5В в ассоциации с маркером Xfba367 и был тесно сцеплен (2,5 сМ) с маркером Xpsr170. Другой локус, ассоциированный с маркером Xtam51 (хромосома 7АL), давал значительный аддитивный эффект при его рассмотрении вместе с локусом на хромосоме 5BS. Еще один *QTL*, влияющий на скрещиваемость и, по-видимому, относящийся к гену *Kr1*, был картирован в 5BL в участке, фланкированном дистально RFLP-маркером Xwg583 и проксимально SSR-маркером Xgwm271. Этот *QTL* оказывал более слабое влияние на признак (Tixier et al., 1998).

Ранее в процедурах по картированию *Kr*-генов использовали линии, где рекомбинация могла иметь место лишь в 5BL (Lange, Riley, 1973; Sitch et al., 1985), поэтому влияние короткого плеча этой хромосомы не могло быть обнаружено. С другой стороны, в работе (Sitch et al., 1985) было показано, что уменьшение дозы 5BS сопровождалось повышением уровня скрещиваемости CS с *H. bulbosum*. Выявление *QTL* у гибрида CS×Courtot, существенно влияющего на уровень

скрещиваемости с рожью и локализованного в 5BS, дало основание предположить наличие у сорта Courtot еще одного доминантного гена, подавляющего межродовую гибридизацию. Ген-супрессор был обозначен как *SKr* (Tixier et al., 1998). Работа по его молекулярному картированию была продолжена D. Lamoureux с соавторами (2002). Анализ QTLs проводили на основе тех же фенотипических данных, что были получены М.Н. Тихьер с соавторами (1998), но для картирования использовали преимущественно AFLP-маркеры (Amplified Fragment Length Polymorphism). Дистальная область карты хромосомы 5BS была дополнена новыми маркерами. Анализ подтвердил наличие в 5BS основного QTL, ингибирующего скрещиваемость с рожью, который наиболее вероятно находился в интервале 5,1 сМ между маркерами Xdl103 и Xfba367 и на расстоянии 12,7 сМ от дистального конца хромосомы.

Создание генетической карты высокого разрешения для участка хромосомы 5BS с геном *SKr* получило продолжение (Alfares et al., 2009). Изучали популяцию линий SSD (single-seed-descent selection = отбор по типу «одно семя с гибридного растения каждого поколения») – потомков F₆ от самоопыления гибридов MP98×Courtot. Родительская линия MP98 была отобрана по признаку высокой скрещиваемости с рожью (70±11,3%) из популяции дигаплоидов гибрида CS×Courtot, которая использовалась в предыдущих работах (Tixier., et al., 1998; Lamoureux et al., 2002). Первоначально авторы (Alfares et al., 2009) применили для картирования новые маркеры из опубликованных баз данных для мягкой пшеницы. Из числа маркеров хромосомы 5BS было взято восемь, детектирующих полиморфизм у родительских форм, включая микросателлиты Xgwm234, Xgpw4098, Xwmc149 и Xgwm443. Все они располагались проксимально по отношению к гену *SKr*. Среди них Xgwm234 был локализован довольно близко к *SKr* (0,2 сМ). Для насыщения карты и поиска маркеров в дистальной области привлекли дополнительные маркеры с EST-карты генома ячменя (Stein et al. 2007), как родственного к пшенице злака. В результате были отобраны два специфичных для хромосомы 5BS EST-маркера GBR0233 и GBR1541, которые располагались дистально и проксимально от *SKr*, соответственно. Отсеквенированная последовательность локуса *GBR0233* оказалась гомологична участку гена риса *Os12g44150* (хромосома 12L) (Alfares et al., 2009), который, в свою очередь, относится к группе генов *Os12g44180-Os12g44250*, идентифицированных в другой работе как гомологи гена *GSP* (Grain softness protein = белок мягкозерности зерновки) мягкой пшеницы (Chantret et al., 2004). На основе последовательности ВАС клона 1793L02 (NCBI #CT009585), содержащего ген *GSP*, авторы разработали сцепленные с геном *SKr* SSR-маркеры cfb306 и cfb309. Кроме того, последовательность локуса *GBR0233* проявляла гомологию с двумя EST-контингами мягкой пшеницы, один из которых (CTG_WHP_856.1-G356.103K22R011024) содержал специфичную для хромосомы 5В последовательность гена *ATPase1-5B* (ATPase = АТФаза), для ее детекции также была разработана пара праймеров (Alfares et al., 2009).

Маркеры cfb306, cfb309, ATPase1-5B применяли для скрининга библиотеки ВАС-клонов сорта CS. Были выделены ВАС-клоны 2163O14 и 317L24A, расположенные проксимально и дистально по отношению к области *SKr*, соответственно. Секвенирование этих клонов дало информацию для разработки дополнительных ISBP- и SSR-маркеров. Были выявлены 5B специфичные SSR-маркеры cfb341 и cfb382, тесно сцепленные с локусом *SKr* (Alfares et al., 2009; Alfares, 2009). Таким образом, ген *SKr* был картирован в интервале 0,1 сМ с тесно сцепленными SSR-маркерами: cfb306, cfb382, cfb341 и фланкирован в промежутке 0,3 сМ между GBR0233 (дистальное положение) и Xgwm234 (проксимальное положение) (Alfares et al., 2009). Позднее были разработаны дополнительные маркеры, ассоциированные с *SKr*: TGlc2 (ISBP), gene12 и gene13, два последних получены на основе ортологичных генов риса *Os12g44100-1* и *Os12g44090*, соответственно (Bouguennec et al., 2018). TGlc2 (ISBP) и gene12 косегрегировали с геном *SKr*, а маркер gene13 фланкировал *SKr* проксимально, на расстоянии 0,6 сМ. Ранее разработанные маркеры cfb306 и cfb341 использовали при картировании гена *SKr* и в других популяциях, например, популяции F₂ (Renan×CS) (Alfares et al., 2009), а также для цитогенетического картирования хромосомы 5B (Timonova et al, 2013).

Еще одна попытка картирования генов, контролирующей скрещиваемость МП с рожью, была предпринята в работе японских исследователей (Mishina et al., 2009). Для картирования использовали рекомбинантные по хромосоме 5B F₇-инбредные линии (CS×CS/Cheyenne5B) и 81 SSR-маркер из работы D. J. Somers с соавторами (2004) и из интернет-ресурса GrainGenes (<https://wheat.pw.usda.gov/GG3/>). Попытка включить в анализ ранее описанные маркеры cfb341 и Xgwm234 (Tixier et al., 1998, Lamoureux et al., 2002, Alfares et al., 2009) не дала положительных результатов из-за отсутствия полиморфизма у родительских форм. В данной популяции основной по силе QTL (*SKr*) был ассоциирован с SSR-маркером Xgwm443 хромосомы 5BS и ограничен генетическими локусами *Xcfd5* и *Xbarc216* (интервал 50 сМ), расположенными дистально и проксимально соответственно. (Mishina et al., 2009). Список молекулярных маркеров, сцепленных с геном *SKr* приведен ниже в таблице 1.2.

Таким образом, с приходом молекулярно-генетических методов были расширены знания о контроле признака скрещиваемости МП с рожью. С помощью QTL-анализа выявлен новый локус – *SKr*, который, как и ген *Kr1* находится в хромосоме 5B, но не в длинном ее плече, а в коротком. Установлено, что по меньшей мере в двух картирующих популяциях именно *SKr*, а не *Kr1* вносит основной вклад в признак скрещиваемости МП с рожью. Ген *SKr* картирован в тесном сцеплении с SSR-маркерами, что открывает перспективы для установления физического участка с его локализацией и поиска генов-кандидатов.

Таблица 1.2 – Молекулярные маркеры основных генов/QTLs скрещиваемости мягкой пшеницы с рожью (Поротников и др., 2020)

Ген/QTL	ДНК маркер	Тип маркера	Положение маркера по отношению к целевому гену/локусу, генетическое расстояние от него, (картирующая популяция)	Результат применения ДНК-маркеров	Литературный источник
<i>SKr</i> хромосома 5BS	Xfba367	RFLP	Ассоциирован с <i>SKr</i> (A)	—	Tixier et al., 1998
	Xpsr170	RFLP	Проксимально 2,5 cM от <i>SKr</i> (A)	—	
	Xdl103	RFLP	Дистально 5,1 cM от <i>SKr</i> (A)	—	Lamoureux et al., 2002
	GBR0233	RFLP	Дистально 0,1 cM от <i>SKr</i> (B)	—	Alfares, 2009
	Xgwm234	SSR	Проксимально 0,2 cM от <i>SKr</i> (B)	Интрогрессия <i>skr</i> в генотипы французских элитных сортов мягкой пшеницы. Валидация маркеров на выборке из 13-ти сортов	Alfares et al., 2009;
			Проксимально 0,3 cM от <i>SKr</i> (C)		Bouguennec et al., 2018
	cfb306	SSR	0,1 cM от <i>SKr</i> (B)		Alfares et al., 2009;
			0,6 cM от <i>SKr</i> (C)		Bouguennec et al., 2018
	cfb341	SSR	0,1 cM от <i>SKr</i> (B)		Alfares et al., 2009;
			Косегрегирует с <i>SKr</i> (C)		Bouguennec et al., 2018
	Tglc2	ISBP	Косегрегирует с <i>SKr</i> (C)		
	gene12	Genomic	Косегрегирует с <i>SKr</i> (C)		
	gene13	Genomic	0,4 cM от <i>SKr</i> (C)		
	cfb382	SSR	0,1 cM от <i>SKr</i> (B)	—	Alfares, 2009
	Xgwm443	SSR	Ассоциирован с <i>SKr</i> (D)	—	Mishina et al., 2009
<i>Kr1</i> хромосома 5BL	Xwg583	RFLP	Ассоциирован с <i>Kr1</i> (A)	—	Tixier et al., 1998
	E33M60-233	AFLP	Проксимально 38,9 cM от Xwg583 (A)	—	Lamoureux et al., 2002
	Xgwm271	SSR	Дистально 25,8 cM от <i>Kr1</i> (A)	—	Tixier et al., 1998
			Дистально 23,7 cM от Xwg583 (A)		Lamoureux et al., 2002
	Xw5145	EST-SSR	Дистально 2 cM от CA1500122/Xw9340 (E)	—	Bertin et al., 2009
	CA1500122/Xw9340	EST-SSR	Проксимально 2 cM от Xw5145 (E)	—	
	Xgwm213	SSR	Ассоциирован с <i>Kr1</i> (E)	—	
<i>Crossability region 2</i> хромосома 5BL	1275L15 cg3	EST-SSR	Проксимально 14 cM от Os09g38060 (E)	—	
	Os09g38060	EST-SSR	Дистально 14 cM от 1275L15 cg3 (E)	—	
	Xgwm371	SSR	Ассоциирован с <i>Crossability region 2</i> (E)	—	

Примечание – работы по локализации проводились на картирующих популяциях: А – DH (CS×Courtot), В – SSD (BC1 F₆ MP98×Courtot), С – гетерогенная инбредная популяция SSD 254-14, D – F₇ CS×CS/Cheyenne 5B, E – дисомные рекомбинантные замещенные линии (Hobbit sib (5BL-7BL, 5BS-7BS)×Hobbit sib (CS 5BL, 7BL)).

Эффективность маркеров гена *SKr* в контроле передачи признака «высокой скрещиваемости с рожью»

Возможность использования маркеров гена *SKr* в маркер-ориентированной селекции (Marker Assisted Selection, MAS) также была продемонстрирована в работах французских исследователей (Alfares et al., 2009). Для этого была использована межсортовая замещенная линия Ct (FK 5B) сорта Courtot (низкая скрещиваемость с рожью), у которой пара хромосом 5B замещена на пару гомологичных хромосом от японского сорта мягкой пшеницы Fukuho Komugi, имеющего высокую скрещиваемость. За счет наличия рецессивных аллелей *kr1* и *skr* линия Ct (FK 5B) демонстрировала высокие показатели скрещиваемости с рожью. Был осуществлен перенос рецессивного аллеля *skr* от линии Ct (FK 5B) в шесть сортов мягкой пшеницы с плохой скрещиваемостью – Genesis, Balthazar, Oratorio, Altria, FD92017, Ornica. Гибриды F₁ между данными сортами и линией-донором *skr* беккроссировали на соответствующий сорт, а затем путем самоопыления были получены гибридные формы BC₂F₂ (Alfares et al., 2009). На каждом этапе скрещиваний авторы контролировали наличие/отсутствие рецессивного аллеля *skr* с помощью маркеров cfb306 и cfb341. Все гибридные линии, за исключением 01BB15-2-1, полученной с участием сорта Oratorio, показали полное соответствие между наличием маркерных фрагментов cfb306 и cfb341 и ожидаемым уровнем скрещиваемости с рожью (Alfares et al., 2009).

Аналогично, в работе A. Bouguennec с соавторами (2018) маркеры, тесно сцепленные с геном *SKr*, использовали для контроля передачи рецессивного аллеля *skr* от линий Balthazar-crossable и Ornica-crossable, полученных W. Alfares с соавторами (2009). В качестве реципиента выступал сорт пшеницы Barok. Авторы использовали уже известные SSR-маркеры cfb306, cfb341 и Xgwm234, сцепленные с геном *SKr*, а также разработали ряд новых маркеров: TGlc2 (ISBP), gene12 и gene13. Маркеры TGlc2, cfb341 и gene12 косегрегировали с *SKr*. Были получены гибриды Barok×Balthazar-crossable и Barok×Ornica-crossable, которые на протяжении трех поколений опыляли сортом Barok, а затем получили поколение от самоопыления. На каждом этапе гибридные формы тестировали на наличие молекулярных маркеров, благодаря чему подтвердили возможность их использования в контроле передачи рецессивного аллеля *skr* в другие сорта (Bouguennec et al., 2018). Диагностическая эффективность этих же маркеров была проверена при генотипировании 13-ти сортов МП различного происхождения. По результатам молекулярного скрининга с помощью маркеров TGlc2, cfb341 и gene12, большая часть образцов, а именно девять (десять для gene13), имели правильную ассоциацию «аллель-признак». В случае же четырех сортов (и трех для gene13), обладающих плохой скрещиваемостью, данные маркеры не смогли соотнести с ожидаемыми размерами продуктов амплификации: они имели аллели, ассоциированные с «высокой скрещиваемостью» (Bouguennec et al., 2018).

Таким образом для гена *SKr* существуют сцепленные с ним ДНК-маркеры, которые успешно применяют в MAS. Потенциально эти маркеры можно также использовать и как диагностические – для выявления растений МП, обладающих высокой/низкой скрещиваемостью с рожью. Потребуются дополнительные исследования по апробации ДНК-маркеров, сцепленных с геном *SKr*, на контрастных по скрещиваемости с рожью выборках МП.

1.2.3 Локализация гена *Kr1* и анализ его функции

Молекулярно-генетическое картирование гена *Kr1*

Первоначально местоположение гена *Kr1* было определено на расстоянии 20 сМ от гена супрессора гомеологичного спаривания хромосом *Ph1* (pairing homoeologous 1), расположенного в проксимальной области хромосомы 5BL (Snape et al., 1995). По результатам других исследований (Lamoureaux et al., 2002) *Kr1* располагался между маркерами E33M60-233 (AFLP) и Xgwm271 (SSR), при этом эффект QTL, который был соотнесен с *Kr1*, оказался намного слабее, чем в случае QTL, ассоциированного с *SKr*.

Для уточнения локализации гена *Kr1* британские ученые (Bertin et al., 2009) создали популяцию рекомбинантных по хромосоме 5BL линий. Популяция была получена с использованием сортов Hobbitt Sib (носителя доминантного аллеля *Kr1*) и CS (рецессивный аллель *kr1*), обладающих низкой и высокой скрещиваемостью с рожью, соответственно. Линии для картирующей популяции созданы путем скрещивания сорта Hobbitt Sib, несущего реципрокно-транслоцированные плечи хромосом 5BL-7BL и 5BS-7BS, с замещенной линией Hobbitt Sib (CS 5BL, 7BL), у которой от сорта CS были длинные плечи хромосом 5B и 7B, а короткие плечи были такими же, как у сорта Hobbitt Sib. Эта замещенная линия Hobbitt Sib (CS 5BL, 7BL) имела стандартные по структуре хромосомы 5BS-5BL и 7BS-7BL. В результате в использованных для картирования дисомных рекомбинантных замещенных линиях (всего 71) наблюдали обмен участками между длинными плечами хромосом 5B сортов Hobbitt Sib и CS, где и локализован *Kr1*. Эти линии оценивали по скрещиваемости с рожью в теплице летом и зимой на протяжении трех сезонов 2006-2008 гг. (Bertin et al., 2009).

Изначально 71 линию генотипировали с использованием общедоступных RFLP- и SSR-маркеров, известных для МП. Было установлено, что ген *Kr1* расположен между SSR-маркерами Xgwm213 и Xgwm371 (Bertin et al., 2009). Кроме того, авторами подтверждены ранее опубликованные данные о близком расположении генов *Kr1* и *Ph1* (Snape et al., 1995) – это было доказано в результате скрининга мутантной линии *ph1b*, содержащей делецию в области гена *Ph1*, с привлечением маркеров Xgwm213 и Xgwm371, фланкирующих ген *Kr1*.

С целью более точного картирования гена *Kr1* авторы (Bertin et al., 2009) использовали линии с рекомбинацией внутри участка хромосомы 5BL, фланкированного маркерами Xgwm213 и Xgwm371, где установлено расположение *Kr1*. В процедуру картирования были привлечены новые ДНК-маркеры, специфичные для участков хромосом 9 риса и Bd4 коротконожки *Brachypodium distachyon* L., коллинеарных хромосоме 5BL МП. Оказалось, что участок между SSR-маркерами Xgwm213 и Xgwm371 содержит два локуса, влияющих на скрещиваемость с рожью:

- первый из них был соотнесен авторами с геном *Kr1*. Этот локус расположен проксимально к гену *Ph1* и фланкирован на участке в 2 сМ между EST-SSR маркерами Xw5145 и DR740708 (таблица 1.2). Этот участок также включает SSR-маркер Xgwm213;

- второй локус получил название *Crossability region 2*. Он находится дистально от гена *Ph1* в интервале 14 сМ между EST-SSR маркерами 1275L15_cg3 и Os09g38060. В этом участке расположен также SSR-маркер Xgwm371 (таблица 1.2). Линии унаследованным от CS локусом *Crossability region 2* обладали высокой скрещиваемостью с рожью даже в случае, если первый локус с геном *Kr1* у них был унаследован от сорта Hobbit Sib. Важно также отметить, что линии с локусом *Crossability region 2* от сорта CS могли скрещиваться с рожью даже в зимний сезон (Bertin et al., 2009).

Таким образом, в результате молекулярно-генетического картирования гена *Kr1* было идентифицировано два близко расположенных локуса, они оба участвуют в контроле скрещиваемости МП с рожью. Первый локус (включающий *Kr1*), фланкирован EST-SSR маркерами Xw5145 и DR740708 и ассоциирован с SSR-маркером Xgwm213, второй локус фланкирован EST-SSR маркерами 1275L15_cg3 и Os09g38060 и ассоциирован с SSR-маркером Xgwm371. Перечень маркеров, использованных для картирования гена *Kr1* приведен в таблице 1.2.

Анализ молекулярной функции гена *Kr1*

В работе японских исследователей был использован другой подход для поиска и описания молекулярной функции гена *Kr1* – анализ дифференциальной экспрессии генов в тканях пестиков у линий МП, различающихся по скрещиваемости с рожью (Manickavelu et al., 2009 a, b). Для этого была создана популяция рекомбинантных инбредных линий (поколения F₈₋₉ самоопыления) по хромосоме 5B. Она получена от скрещивания материнской формы – моносомика сорта CS ($2n = 41$) по хромосоме 5B с отцовской формой – гибридом F₁ от скрещивания замещенной линии CS (Mara 5B) с сортом CS ($2n = 42$). Среди потомков от этого скрещивания отбирали растения с $2n = 41$, которые поддерживали самоопылением в течение восьми-деяти поколений, что привело к получению популяции гомозиготных рекомбинантных линий по хромосоме 5B. Среди них с помощью цитологического анализа были отобраны 20 линий ($2n = 42$), фенотипически похожих

на сорт CS. Скрещивание растений этих линий с рожью проводили в течение трех лет ежегодно для определения линий с низкой и высокой скрещиваемостью. Для эксперимента использовали тотальную РНК, выделенную из тканей пестиков линий, контрастных по скрещиваемости с рожью, а также сорта CS. Брали пестики, извлеченные через два дня после кастрации цветков.

Чтобы выявить гены, уровень экспрессии (активности) которых статистически различается в тканях пестика у групп линий с высокой и низкой скрещиваемостью с рожью, был использован DEG-анализ (Differential Gene Expression – анализ дифференциально экспрессируемых генов). Анализ проводили с помощью двух методов:

1. Технологии ACP (Annealing Control Primer – праймер с контролируемым отжигом). Суть метода заключается в синтезе кДНК на матрице РНК, после чего на полученной кДНК-матрице проводится ПЦР с использованием специальных ACP-праймеров. За счет своей уникальной структуры эти праймеры обеспечивают специфичный отжиг и последующий синтез целевых фрагментов кДНК (DEF-последовательностей), которые выявляли электрофорезом в агарозном геле. В результате было выделено две DEF-последовательности (Manickavelu et al., 2009 a).

2. Технологии кДНК-AFLP, которая подразумевает получение кДНК на матрице РНК, фрагментацию кДНК с использованием рестриктаз *EcoRI* и *MseI*, лигирование рестрицированных фрагментов со специфичными адаптерами и последующую ПЦР. С помощью этого метода было получено 14 TaDEF-последовательности генов (Manickavelu et al., 2009 b).

Экспрессия выделенных DEF- и TaDEF-последовательностей была также оценена методом нозерн-блот-анализа (Northern Blot). В результате было показано, что все полученные последовательности относились к генам, которые были транскрипционно активны у линий с низкой скрещиваемостью с рожью и не экспрессировались у совместимых с рожью линий, включая сорт CS (Manickavelu et al., 2009 a, b). Это можно объяснить тем, что в случае высокой скрещиваемости с рожью рецессивный аллель *kr1* интактен и не будет транскрибироваться в полной мере. Отсутствие транскрипции рецессивных аллелей *kr1* подтверждают и исследования, в которых изучали скрещиваемость с рожью тетраомных по хромосоме 5В линий CS (число рецессивных аллелей *kr1* было увеличено в два раза). Скрещиваемость с рожью таких линий была не выше, чем у исходного сорта CS (Falk, Kasha, 1983). Другими словами, увеличение дозы рецессивных аллелей *kr1* не повлияло на уровень скрещиваемости с рожью.

Полученные дифференциально экспрессируемые фрагменты (Manickavelu et al., 2009 b) были секвенированы и классифицированы на четыре группы в зависимости от функции генов, которым они гомологичны: транспортная (TaDEF1-3), участие в метаболизме (TaDEF4-7), транскрипционные факторы (TaDEF8-10), а также последняя группа с неизвестной функцией (TaDEF11-14). На основе анализа этих последовательностей японские исследователи пришли к

выводу, что функция *Kr1* может быть связана с распознаванием/передачей стрессовых сигналов и фотоиндукцией (Manickavelu et al., 2009 b).

Работа по поиску гена *Kr1* и анализу его возможной функции была продолжена группой китайских ученых (Cai et al., 2012). За основу взята последовательность DEF2 (#AB379558.1), полученная и аннотированная ранее (Manickavelu et al., 2009 a). В результате изучения, DEF2 оказалась гомологична гену кальций-зависимой протеинкиназы риса – *CDPK* (Calcium-dependent protein kinase) – белку, участвующему в передаче различных стресс-чувствительных сигналов при развитии цветка. В базе данных NCBI последовательность DEF2 обозначена как кДНК псевдогена *Kr1*. С ее использованием китайские ученые с помощью специфичных праймеров амплифицировали фрагменты геномной последовательности этого гена (длиной 414 п.н.) у трех сортов пшеницы (Cai et al., 2012). Полученные последовательности на 85% гомологичны гену *SRK* мягкой пшеницы (*S*-locus receptor kinase, #AY963808.1), который экспрессируется в тканях пестика и отвечает за распознавание пыльцы у вида *Brassica oleracea* L (Stein et al., 1991). Наряду с другими генами *S*-локуса, *SRK* участвует в контроле совместимости рыльца пестика с чужеродной пыльцой.

На базе той же частичной последовательности псевдогена *Kr1* (DEF2, #AB379558.1) у нескольких сортов МП была получена почти полная последовательность (1273 п.н. у CS) его кДНК (Cai et al., 2016 a). Затем проведено полное секвенирование *Kr1* с помощью методов прогулки по геному (Genome walking) и быстрой амплификации концов кДНК (Rapid amplification of cDNA ends, RACE) (Cai et al., 2016 b). У плохо скрещивающегося с рожью сорта Mazhamai (аллель *Kr1*) последовательность гена имеет длину 4006 п.н. и содержит четыре экзона общей длиной 1671 п.н., которые кодируют 557 аминокислот. У сорта CS (аллель *kr1*) последовательность гена короче (3945 п.н.) и только на 56,24% гомологична доминантному аллелю. Основные отличия рецессивного аллеля от функционального отмечены в третьем и четвертом экзонах, которые у *kr1* содержат большое количество стоп-кодона, что указывает на невозможность его экспрессии в полном объеме. В работе приведена только последовательность *Kr1* сорта Mazhamai (Cai et al., 2016 b).

Следует отметить, что за последние десять лет не выходило больше исследований опубликованного сиквенса гена *Kr1*, а также более ранних DEF- и TaDEF-последовательностей, приведенных японскими и китайскими коллективами авторов (Manickavelu et al., 2009 a, b; Cai et al., 2012, 2016 a, b). В связи с появлением секвенированных и аннотированных геномов различных сортов МП, необходимы дальнейшие работы по сопоставлению опубликованных и потенциально связанных с геном *Kr1* последовательностей, с целью их верификации.

1.2.4 Синтетическая гексаплоидная пшеница – источник новых локусов скрещиваемости с рожью

Все описанные выше гены и QTLs, ответственные за скрещиваемость с рожью, идентифицированы у МП. Синтетическая гексаплоидная пшеница (СГП) имеет тот же геномный состав, что и МП, но потенциально может обладать куда более широким генетическим разнообразием, поскольку для её получения в качестве родительских форм привлекают представителей различных видов тетраплоидных пшениц ($2n = 4x = 28$, ВВАА) и дикорастущего вида *Ae. tauschii* (Bhatta et al., 2018; Хакимова и др., 2019). Поэтому у СГП могут присутствовать как другие локусы, так и новые аллели общих с МП локусов.

Действительно, такие гены были выявлены у СГП, а именно у линии Am3, полученной путем гибридизации пшеницы карталинской *T. carthlicum* Nevski = *T. persicum* Vav. с *Ae. tauschii* (Zhang et al., 2011). После скрещивания Am3 с китайским сортом пшеницы Laizhou 953 при последующем многократном беккроссировании и самоопылении гибридов, популяция из интрогрессивных линий BC₅F₆ была подвергнута молекулярному скринингу с использованием 1256 SSR-маркеров. Скрещиваемость интрогрессивных линий с рожью оценивали в двух провинциях Китая – Luoyang в 2008 г. и Jiaozuo в 2009 г. Всего было выявлено 13 QTLs, для пяти из них (*QCa.caas.1A*, *QCa.caas.2D*, *QCa.caas.4B*, *QCa.caas.5B* и *QCa.caas.6A*) влияние на скрещиваемость обнаружено в обеих провинциях. Наиболее сильный локус *QCa.caas.5B* в хромосоме 5BS был сцеплен с SSR-маркером *Xwmcl49* (унаследован от *T. carthlicum*), что позволило авторам ассоциировать его с геном *SKr*. Дополнительные локусы были выявлены в хромосомах 1A, 2D, 4B и 6A. Локус *QCa.caas.1A*, полученный также от пшеницы карталинской и фланкированный SSR маркерами *Xbarc213* и *Xbarc287* в интервале 10 cM на коротком плече хромосомы 1A, интересен тем, что он может относиться к *Kr4*. Как утверждают авторы цитируемой работы, три других локуса: *QCa.caas.2D* (унаследован от *Ae. tauschii*), *QCa.caas.4B* и *QCa.caas.6A* (унаследованы от Laizhou953) были открыты впервые (Zhang et al., 2011).

1.3 Рожь посевная как ценный ресурс для обогащения генофонда мягкой пшеницы

Рожь посевную вовлекали в скрещивания с мягкой пшеницей с конца XIX – начала XX веков (Backhouse, 1916). В 1930-х гг. в Германии были получены первые формы мягкой пшеницы с транслокациями короткого плеча хромосомы 1R ржи в длинное плечо хромосомы 1В пшеницы (T1BL.1RS). В настоящее время в мире известно более 1050 сортов пшеницы, содержащих эту транслокацию, а также около 100 сортов с транслокацией T1AL.1RS (Perschina, 2014; Moskal et al., 2021). Широкое распространение обеих транслокаций обусловлено наличием в 1RS комплекса

генов, контролирующих устойчивость к различным грибным патогенам, таким как стеблевая (*Sr31*), бурая (*Lr26*) и желтая (*Yr9*) ржавчины, мучнистая роса (*Pm8*) (Mago et al., 2005; Ren et al., 2009; Crespo-Herrera et al., 2017).

Следует отметить, что большая часть сортов с транслокацией T1BL.1RS несет чужеродный хроматин от сорта ржи Petkus из Германии, а с транслокациями T1AL.1RS и T1DL.1RS – от Аргентинских сортов ржи Insave и Imperial, соответственно (Crespo-Herrera et al., 2017; Moskal et al., 2021). Столь ограниченное разнообразие ржаного генетического материала, очевидно, не в состоянии обеспечить устойчивость пшеницы к новым расам вредных организмов, которые стали появляться уже в 90-е годы XX века (Porter et al., 1991; Pretorius et al., 2000). Для решения этой проблемы начали создавать линии пшеницы с новыми ржаными транслокациями, как путём скрещивания с теми же сортами ржи Petkus и Insave, (Ren et al. 2009; Tang et al., 2009), так и с новыми (Ren et al., 2012, 2017; Yang et al., 2014; Li et al., 2016). Кроме того, линию пшеницы "Martonvásári 9 krl", хорошо скрещивающуюся с рожью и несущую T1BL.1RS, использовали в гибридизации с *Secale cereanum* cv. Kriszta и за счет рекомбинации между хромосомами T1BL.1RS и 1R в пшеницу были введены новые аллели генов ржи (Molnár-Láng et al., 2010). Одна из таких рекомбинантных форм дала начало линии M9krl-‘Kriszta’ T1BL.1RS line ‘179’, обладающей устойчивостью к желтой и бурой ржавчинам в сочетании с высоким качеством зерна (Szakács et al., 2020). Используя совместимые с рожью местные китайские сорта пшеницы Mianyang 11 и A42912, были также созданы линии с T1BL.1RS от разных сортов ржи, которые содержали новые эффективные аллели генов устойчивости к расам *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* и *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* (Ren et al., 2012, 2017; Yang et al., 2014; Li et al., 2016). Передача генетического материала хромосомы 2R ржи в пшеницу сопровождалась переносом генов устойчивости к листовой (*Lr25* и *Lr45*) и стеблевой (*Sr59*) ржавчинам, повышением адаптивности растений к засушливым условиям климата (Ehdaie et al., 2003). В хромосомах 5RL и 7R выявлены гены, повышающие эффективность усвоения меди и цинка из почвы (Owuochi et al., 1996; Sakmak et al., 1997). Перечень известных пшенично-ржанных транслокаций и генов устойчивости приведен в обзорах (Crespo-Herrera et al., 2017; Moskal et al., 2021). Следует отметить, что в настоящий момент потенциал генетического разнообразия, заключенный в хромосомах ржи, помимо 1R, в селекции пшеницы практически остался не использованным (Crespo-Herrera et al., 2017; Moskal et al., 2021).

В разные периоды времени на базе коллекции ВИР также проводили исследования по скрещиваемости мягкой пшеницы с рожью. Признак «высокая скрещиваемость пшеницы с рожью» был целенаправленно передан в озимый сорт Приекульская 481, на его основе созданы легко скрещивающиеся линии (Суриков, Киссель, 1980), которые наряду с другими линиями использовали в гибридизации с двурядными и шестирядными формами ячменя для получения

различных межродовых гибридов (Суриков, Киссель, 1987). Созданы оригинальные, совместимые с разными видами ржи, формы озимой мягкой пшеницы AM808 (на основе к-48253 Arthur, США) и MA808 (на основе к-43920 Мироновская 808, СССР), которые при опылении рожью давали жизнеспособные гибридные и частично фертильные растения F₁ (Рехметулин, 1988). Возможность получения частично фертильных гибридных растений и от них константных первичных высокопродуктивных зимостойких пшенично-ржаных линий подтверждена и в наши дни, при этом методом геномной *in situ* гибридизации у всех линий выявлена элиминация хромосом генома D и наличие полных геномов B, A и R (Pyukkenen et al., 2019).

Созданные путем гибридизации пшеницы с рожью разного типа генетические линии, сорта, содержащие транслокации и интрогрессии с чужеродными аллелями генов, формируют ценный ресурс для проведения научных исследований и селекции.

Заключение по литературному обзору

Необходимость обогащения генофонда МП новыми аллелями генов, прежде всего контролирующими различные адаптивные реакции растений, стимулирует проведение исследований по поиску новых форм, обладающих высокой скрещиваемостью с рожью посевной, а также по изучению генетики межродовой совместимости. Получение нового знания о генетической природе признака «скрещиваемость пшеницы с рожью» напрямую связано с введением в генетический анализ разных типов молекулярных маркеров, построением насыщенных генетических карт хромосом пшеницы, молекулярно-генетическим картированием *Kr*-генов и гена *SKr*, а также идентификацией других локусов, ответственных за признак скрещиваемости, созданием доступного для изучения исходного материала и формированием общего информационного банка данных.

В настоящее время на молекулярно-генетических картах локализованы гены *SKr* и *Kr1*, вносящие основной вклад в признак скрещиваемости МП с рожью. Для гена *SKr* описаны сцепленные ДНК-маркеры TGlc2, cfb341, gene12 и gene13, которые успешно применяют для контроля передачи признака «высокой скрещиваемости с рожью». По-видимому, данные маркеры можно также использовать как диагностические для поиска МП с высокой/низкой скрещиваемостью с рожью, однако это еще предстоит проверить при анализе репрезентативной выборки образцов из коллекции ВИР.

Для гена *Kr1* описаны ДНК-маркеры, которые были использованы с целью его картирования в рамках одной расщепляющейся популяции. Применение данных маркеров в контроле передачи признака скрещиваемости с рожью, а также для скрининга *ex situ* коллекций пшеницы, как и в случае с маркерами гена *SKr*, еще ждет своей проверки. Большие возможности для разработки новых маркеров открываются в связи с публикацией последовательностей

дифференциально-экспрессируемых фрагментов генов, потенциально относящихся к гену *Kr1*, а также полной последовательности гена *Kr1*.

Доступность аннотированных геномных сборок различных сортов МП, среди которых есть сорта как с высокой, так и с низкой скрещиваемостью с рожью, открывает перспективы для идентификации физических участков локализации генов *SKr* и *Kr1*, разработки новых ДНК-маркеров, которые могут быть ассоциированы с признаком скрещиваемости, а также поиска генов-кандидатов на роль *SKr* и *Kr1*.

Кроме того, наличие в коллекции ВИР около 32 тысяч образцов МП и СГП, в том числе, и различающихся по скрещиваемости с рожью, это более чем достаточная ресурсная база для решения запланированных в нашем исследовании задач.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Растительный материал

Для изучения гексаплоидной пшеницы по признаку скрещиваемости с рожью было сформировано три набора, суммарно содержащих 213 образцов МП и 27 СГП (приложения 1-3).

Первый набор (приложение 1) послужил основой для апробации существующих ДНК-маркеров, сцепленных с геном *SKr* (Alfares et al., 2009; Bouguennec et al., 2018), контролирующим скрещиваемость МП с рожью. Набор насчитывал 105 образцов МП, из которых для 97 образцов скрещиваемость МП с рожью была известна из литературных данных (Riley, Chapman, 1967; Krolow, 1970; Ригин, 1976; Snape et al., 1979; Суриков, Киссель, 1985; Zeven, 1987; Рехметулин, 1987, 1988; Rui et al., 1995; Tixier et al., 1998; Пюккенен, 2007; Bertin et al., 2009; Рубец, 2016; Cai et al., 2016 а). Образцы набора происходили из 24 стран мира, при этом наиболее представлены в нем были образцы из Китая (46 образцов), России (18) и Японии (10). Из них 41 образец имел яровой тип развития, 61 – озимый и три – факультативный. Среди яровых форм 11 линий были отобраны В. П. Пюккенен (ст. н. с. отд. ГР пшеницы ВИР) по признаку высокой скрещиваемости с рожью из образцов стародавней МП Китая (Пюккенен, 2007). Озимые образцы с высокой скрещиваемостью с рожью были представлены 25 линиями, также происходящими от стародавней МП этой страны (Пюккенен, 2007); шестью линиями сорта Приекульская-481 с рецессивными аллелями *kr1kr1kr2kr2*, перенесенными от сорта CS (Суриков, Киссель, 1980); и совместимыми с рожью линиями АМ 808 и МА 808, полученными путем химического мутагенеза гибридов от несовместимых с рожью сортов озимой МП Артур и Мироновская 808 (Рехметулин, 1988).

За период с 2020 по 2023 гг. все образцы были высеяны в поле НПБ «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР». От каждого образца на стадии кущения было этикетировано, как правило, несколько (3-5) растений. Затем, на стадии выхода в трубку от каждого помеченного растения был срезан лист для последующего выделения ДНК. Большинство растений образцов (76 из 105) было проверено по скрещиваемости с диплоидной рожью (приложение 1). Оценку скрещиваемости с рожью проводили для этикетированных растений, из листьев которых была выделена ДНК, при этом опыляли рожью кастрированные колосья тех растений, сроки созревания цветков которых совпали со временем цветения ржи. На данный момент каждое фенотипированное по скрещиваемости растение представлено репродукцией семян и препаратом ДНК.

Второй набор образцов (приложение 2) был сформирован для оценки географического разнообразия аллелей маркерных локусов, сцепленных с геном *SKr*, и апробации их для

скрининга коллекции ВИР. Он включал 108 образцов МП, в том числе из Китая (53 образца), Афганистана (7), Индии (8), Ирана (10), Монголии (10), Пакистана (10) и Турции (10). Большинство из них – стародавние сорта. Уровень скрещиваемости образцов этого набора был не известен.

У большинства (98 из 108) образцов МП второго набора анализировали как препараты ДНК отдельных растений, так и суммарные ДНК-пробы, полученные из 10–15 проростков (bulk-проба), что позволяло с большей вероятностью обнаружить генетическую неоднородность образцов. Исключение составили к-5507, к-22261, к-22308, к-23812 и к-32848, у которых анализировали ДНК только отдельных растений. Были также образцы, представленные исключительно bulk-пробами: к-14497, к-26085, к-28675, к-28996 и к-29139.

После молекулярного скрининга часть образцов с яровым типом развития, у которых выявлены новые аллели маркерных локусов, была высеяна в поле для оценки их скрещиваемости с рожью и закладки от них линий.

Третий набор (приложение 3) состоял из 27 образцов СГП, созданных в International Maize and Wheat Improvement Center (CIMMYT, Мексика), которые поступили в ВИР из Wheat Genetic Resources Center at Kansas State University (США). Материал предоставлен А. Г. Хакимовой (в.н.с. отд. ГР Пшеницы ВИР). Данный набор использовали для оценки диагностической эффективности ДНК-маркеров гена *SKr* в выявлении форм СГП с высокой/низкой скрещиваемостью с рожью, а также для сравнения результатов молекулярного скрининга с МП. Скрещиваемость большинства (22) образцов СГП была известна по литературным данным (Yang et al., 2007). Образцы этого набора получены при гибридизации 26 сортов твердой пшеницы *T. durum* и 24 образцов дикорастущего эгилопса *Ae. tauschii*.

Все образцы СГП были высеяны в поле за период с 2020 по 2023 гг. для оценки их уровня скрещиваемости с рожью и закладки линий. От отдельных растений каждого образца были получены препараты ДНК, от фенотипированных растений получены семена.

Материалом для апробации системы ДНК-маркеров аллелей генов *Rht-B1* и *Rht-D1*, контролирующих высоту растений, послужили 11 образцов МП из коллекции ВИР с известными аллелями генов *Rht-B1* и *Rht-D1* (таблица 2.1). Источниками аллелей дикого типа *Rht-B1a* и *Rht-D1a* были сорта CS и Hong-dong-mai. При генотипировании каждый изученный образец был представлен двумя-тремя растениями, а также суммарно 10-15 генотипами (проростками), из которых была получена ДНК в виде bulk-пробы.

Таблица 2.1 – Используемые в работе образцы мягкой пшеницы с известными аллелями генов *Rht-B1* и *Rht-D1*

Аллели генов	№ по каталогу ВИР (к-)	Название образца	Происхождение	Литературный источник
<i>Rht-B1a, Rht-D1a</i>	43080	Chinese Spring	Китай	Peng et al., 1999
	61292	Hong-dong-mai	Китай	Li et al., 2013
<i>Rht-B1b, Rht-D1a</i>	63045	Княжна	Россия, Краснодарский край	Divashuk et al., 2013
	64312	Красота	Россия, Краснодарский край	
<i>Rht-B1c, Rht-D1a</i>	40699	Tom Thumb	Китай	Pearce et al., 2011
<i>Rht-B1e, Rht-D1a</i>	64583	Веда	Россия, Краснодарский край	Divashuk et al., 2013
	65223	Гром	Россия, Краснодарский край	
<i>Rht-B1h, Rht-D1a</i>	44977	Atlas 66	США	Li et al., 2013
<i>Rht-B1i-1, Rht-D1a</i>	10152	Триумф	СССР, Украинская ССР	
<i>Rht-B1p, Rht-D1a</i>	54848	Chris Mutant	Россия, Краснодарский край	Bazhenov et al., 2015
<i>Rht-B1h, Rht-D1b</i>	65711	Zheng 9023	Китай	Li et al., 2013

2.2 Геномные сборки мягкой пшеницы, использованные в исследовании

Поиск SSR-локусов, а также установление участков с локализацией генов *SKr* и *Kr1* осуществляли в референсном геноме мягкой пшеницы сорта Chinese Spring (IWGSC CS RefSeq v2.1, NCBI #GCA_018294505.1). CS характеризуется высокой скрещиваемостью с рожью (Ригин, 1976). Немаловажным для нас был тот факт, что именно с участием CS картированы локусы, ответственные за скрещиваемость МП с рожью, в том числе и гены *SKr* и *Kr1* (Tixier et al., 2009; Alfares et al., 2009; Bertin et al., 2009).

Для уточнения физической локализации генов *SKr* и *Kr1* использовали полногеномные сборки следующих сортов МП:

- усовершенствованную сборку CS (CS-IAAS, NCBI #GCA_040256815.2), которую получили S. Liu с соавторами (2025) на основе длинных прочтений с использованием технологий одноцепочечного секвенирования (PacBio HiFi и/или Oxford Nanopore), что позволило собрать этот геном точнее, чем референсный геном CS (RefSeq v2.1);

- сортов Julius (NCBI #GCA_903994195.1), Lancer (NCBI #GCA_903993975.1) и Stanley (NCBI #GCA_903994155.1), секвенированных в рамках международной инициативы «10+ Wheat Genomes Project» (Walkowiak et al., 2020). Растения всех этих сортов обладают низкой скрещиваемостью с рожью (доминантные аллели *Kr1* и *SKr*), что установлено в результате проведенного нами фенотипирования (скрещиваемость с рожью 0,0-6,0%).

Поиск генов-кандидатов на роль супрессора *SKr* осуществляли на основе аннотированного генома МП сорта Lancer. Аминокислотные последовательности белков, кодируемых генами, извлекали из геномных сборок пяти сортов МП: CS (RefSeq v2.1) и Norin 61 (NCBI

#GCA_904066035.1), обладающих высокой скрещиваемостью с рожью; а также сортов с низкой скрещиваемостью – Julius, Lancer и Stanley.

2.3 Оценка пшеницы по скрещиваемости с рожью

Гибридизацию МП и СГП с рожью проводили твел-методом (Мережко и др., 1973) в поле НПБ «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР» в июне-июле 2021-2023 гг. В качестве опылителя брали озимую диплоидную рожь сортов Ильмень (к-11000), Сударушка (к-11891), Эра (к-11640) и яровую Prolific (к-9369). Уровень скрещиваемости с рожью определяли как процент завязавшихся гибридных зерновок от общего числа кастрированных, а затем опыленных цветков в колосе.

Под «высокой» скрещиваемостью понимали завязываемость 25,0-100,0%, а под «низкой» – 0,0-15,0%. Разбиение на эти два класса базируется на данных, полученных A. Lein (1943), по завязываемости зерновок при опылении рожью растений F_2 , различающихся по доминантным и рецессивным аллелям двух генов скрещиваемости ($Kr1Kr1Kr2Kr2$ – до 10%, $Kr1Kr1kr2kr2$ – 10-30%, $kr1kr1Kr2Kr2$ – 30-50%, $kr1kr1kr2kr2$ – более 50%). Мы преднамеренно из дальнейшего анализа исключали линии со скрещиваемостью от 16 до 24%, чтобы четче разграничить выделяемые нами два фенотипических класса. Следует отметить, что и в других работах по анализу сцепления ДНК-маркеров с генами *SKr* и *Kr1* также выделяли два класса (Tixier et al., 1998; Bertin et al., 2009; Bouguennec et al., 2018).

2.4 Методы *in silico*

Поиск и анализ *in silico* генов-кандидатов на роль *Kr1* и *SKr*

Для гена *Kr1* анализ опубликованных последовательностей осуществляли в референсном геноме CS (RefSeq v2.1) с помощью BLAST-анализа, используя:

- дифференциально экспрессируемые фрагменты кДНК генов (TaDEF1-14, DEF2), полученных из тканей пестиков пшеницы (Manickavelu et al., 2009 a, b);
- частичных последовательностей ДНК гена *Kr1* (Cai et al., 2012) и его кДНК, полученной у сортов МП ZhenMai9023 (NCBI, #KU553298.1), MaZhamai (#KU553299.1), Baimangmai (#KU553297.1) и CS (#KU553296.1) (Cai et al., 2016 a);
- полной нуклеотидной последовательности ДНК всего гена *Kr1* (Cai et al., 2016 b).

Поиск генов-кандидатов на роль супрессора *SKr* проводили в аннотированной геномной сборке МП сорта Lancer, обладающего низкой скрещиваемостью с рожью (предположительно с доминантным аллелем *SKr*). Аминокислотные последовательности белков, кодируемых генами,

извлекали из геномных сборок пяти сортов МП: CS (RefSeq v2.1) и Norin 61, обладающих высокой скрещиваемостью с рожью; а также сортов с низкой скрещиваемостью – Julius, Lancer и Stanley. Выравнивание последовательностей проводили в программах MEGA11 (Tamura et al., 2021) и Unipro UGENE v.50.0 (Okonechnikov et al., 2012). Анализ аминокислотных последовательностей белков с целью определения возможных функций генов осуществляли в базе данных UniProt (<https://www.uniprot.org/>).

Построение физических карт хромосом

Физические карты участков хромосом 5BS и 5BL конструировали в программе MapChart v.2.32 (Voorrips, 2002). Карты строили на основе расположения последовательностей ампликонов для маркеров генов *Kr1* и *SKr* в полногеномных сборках следующих сортов пшеницы: референсного генома CS (RefSeq v2.1), более совершенной сборки этого сорта CS-IAAS, а также сортов Julius, Lancer и Stanley. Локализацию последовательностей устанавливали путем поиска сайтов отжига праймеров в геномных сборках с помощью функции «ПЦР *in silico*» в программе Unipro UGENE v.50.0 (Okonechnikov et al., 2012).

Разработка SSR-маркеров

Поиск SSR-локусов осуществляли с помощью программы Unipro UGENE v.50.0 (Okonechnikov et al., 2012). Отбор микросателлитов проводили таким образом, чтобы они соответствовали классу I (число повторов мотива – от семи и более) и имели размер повторяющегося мотива от 3 до 6 п.н.

Разработку праймеров для амплификации последовательностей SSR-локусов выполняли при помощи инструмента Primer-BLAST (Ye et al., 2012), позволяющего учитывать специфичность отжига праймеров в геноме CS (RefSeq v2.1). Качество праймеров контролировали, используя инструмент OligoAnalyzer™ Tool, доступный на онлайн-платформе Integrated DNA Technologies (<https://eu.idtdna.com/page>).

Разработка CAPS- и dCAPS-маркеров

CAPS- и dCAPS-маркеры использовали для маркирования SNP, известных для мутантных аллелей генов короткостебельности *Rht-B1* и *Rht-D1*. С целью выявления этих SNP к ним подбирали рестрикционные сайты, используя программу SnapGene Viewer v.7.1.1 (GSL Biotech LLC, USA). После подбора рестриктаз для амплификации участков с SNP (CAPS-маркеры) разрабатывали специфичные праймеры на интернет-ресурсе Primer-BLAST (Ye et al., 2012). Контроль качества праймеров проводили при помощи OligoAnalyzer™ Tool (<https://eu.idtdna.com/page>).

В случае отсутствия рестриктаз, способных расщеплять ДНК в месте локализации точечной мутации, рестрикционные сайты могут быть искусственно внесены в последовательность праймера (derived CAPS – dCAPS). Праймеры для dCAPS-маркеров

проектировали с использованием программы dCAPS Finder 2.0 (Neff, Turk, 2002), используя в качестве входных данных последовательности аллелей дикого и мутантного типов.

2.5 Молекулярный скрининг

Экстракция ДНК

Выделение тотальной ДНК проводили из десятидневных проростков или листьев полевых растений с использованием метода SDS (Sodium Dodecyl Sulfate) экстракции (Дорохов, Клоке, 1997). Качество и концентрацию ДНК контролировали при помощи нанофотометра Implen N60 (Implen GmbH, Germany), а также электрофорезом в 0,8% агарозном геле.

Каждый образец был представлен одним-семью препаратами ДНК, выделенными из отдельных растений (приложения 1-3). В ряде случаев для образцов второго набора получены также и объединенные bulk-пробы из 10-15 растений образца.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР)

ПЦР с использованием ДНК-маркеров *cfb341*, *TGlc2*, *gene12* и *gene13*, сцепленных с геном *SKr*. Последовательности праймеров (таблица 2.2), взяты из литературных источников (Alfares et al., 2009; Bouguennec et al., 2018). Контролями служили родительские формы пшеницы, использованные авторами для картирования гена *SKr*: сорт CS, обладающий высокой завязываемостью зерновок при опылении рожью, и сорт Courtot (CT) с низкой скрещиваемостью.

Таблица 2.2 – ДНК маркеры гена *SKr*, отобранные по литературным источникам (Alfares et al., 2009; Bouguennec et al., 2018)

Маркерный локус	Генетическое расстояние от <i>SKr</i> (сМ)	Последовательность праймеров (5'→3') ¹	Диагностический фрагмент, п.н. ² (CT/CS)
<i>cfb341</i>	0 сМ (Косерегируют с <i>SKr</i>)	taattagggcctgcttctgct ttccttcacccaagagactgg	163 – CT; 176 – CS
<i>TGlc2</i>		tgattgctccacaaaactgc gctgcactctctccagttcc	279 – CT; 290 – CS
<i>gene12</i>		ccgtccagaaattaactgtcg tgaaattcagttgccacttc	342 – CT; 391 – CS
<i>gene13</i>	0.4 сМ	ctgctggtggacaacgagacc gaggaagcaagaatccgtagg	451 – CT; 456 – CS

Примечания: 1 – Каждый прямой праймер на 5'-конце дополнительно имеет последовательность прямого праймера M13 (caccgacgttgtaaaacgac). 2 – Размер ПЦР-продуктов, аналогично с авторами маркеров, указан с учетом длины последовательности прямого праймера M13.

Для проведения ПЦР без флуоресцентной метки для праймеров локуса *gene12* использовали 20 мкл реакционной смеси, содержащей 40 нг тотальной ДНК пшеницы;

1 × реакционный буфер; 2,5 мМ MgCl₂; по 0,4 мМ каждого из dNTP's; по 0,5 мкМ прямого и обратного праймеров и 0,75 ед. Taq-полимеразы (Диалат, Россия).

Для проведения ПЦР с флуоресцентной меткой (праймеры локусов *cfb341*, *gene12*, *TGlc2* и *gene13*), реакцию осуществляли в 14 мкл смеси состава, содержащей 10 нг тотальной ДНК; 1 × реакционный буфер; 2,5 мМ MgCl₂; по 0,4 мМ каждого из dNTP's; 0,04 мкМ прямого праймера и 0,16 мкМ обратного праймера; 0,75 ед. Taq-полимеразы (Диалат, Россия). Дополнительно смесь включала прямой праймер M13 (caccgacgttgtaaaacgac) в концентрации 0,16 мкМ, маркированный одним из флуоресцентных красителей: IRD700 и IRD800 (LI-COR, Inc., USA) – для последующего анализа на приборе LI-COR 4300S, а также FAM, ROX, R6G, TAMRA (Синтол, Россия) – для анализа на установке Нанофор 05 (Синтол). При этом прямой праймер на 5'-конце тоже имел последовательность M13, в результате чего в последующих циклах образовывались флуоресцентно-меченные ПЦР продукты. Пониженная концентрация прямого праймера обеспечивала лучший отжиг праймера M13 (Barkley et al., 2007).

Для ПЦР с праймерами *cfb341*, *TGlc2*, *gene12* и *gene13* использовали программы, рекомендованные авторами (Bouguennec et al., 2018).

ПЦР с привлечением SSR-маркеров. Реакцию осуществляли с использованием 14 пар праймеров, разработанных в настоящем исследовании, и двух пар, отобранных из литературных источников (таблица 2.3) (Röder et al., 1998; Alfares, 2009; Bertin et al., 2009).

Реакционная смесь объемом 14 мкл содержала 10 нг тотальной ДНК; 1 × реакционный буфер; 2,5 мМ MgCl₂; по 0,4 мМ каждого из dNTP's; 0,04 мкМ прямого праймера и 0,16 мкМ обратного праймера; 0,75 ед. Taq-полимеразы (Диалат, Россия). Дополнительно смесь включала прямой праймер M13 (caccgacgttgtaaaacgac) в концентрации 0,16 мкМ, маркированный одним из флуоресцентных красителей: IRD700 и IRD800 (LI-COR, Inc., USA), а также FAM, ROX, R6G, TAMRA (Синтол, Россия).

ПЦР для разработанных нами праймеров проводили по следующей схеме: 94°C – 3 мин 30 сек, 10 циклов [94 °C – 45 сек, T_m °C – 1 мин 30 сек, 72 °C – 1 мин], 25 циклов [94°C – 45 сек, 55 °C – 45 сек, 72 °C – 1 мин] и в заключение 72 °C – 7 мин. Понижение температуры отжига до 55 °C способствовало лучшему связыванию флуоресцентно меченного праймера M13 и увеличивало выход маркированных ПЦР-продуктов. Для остальных праймеров программы соответствовали рекомендуемым авторами (Röder et al., 1998; Alfares, 2009).

Таблица 2.3 – Праймеры для амплификации SSR-последовательностей, использованных для характеристики выборки из 78 генотипов пшеницы

SSR-локус ¹	Мотив ²	Последовательность праймеров (5'→3') ³	Ожидаемый размер ПЦР-продукта (п.н.) ²	Tm °C	Локализация в хромосоме 5B (геном CS RefSeq v2.1)
Хромосома 5BS					
<i>Xvir1</i>	(AAT) ₈	F: ttgtttgcatcagttgggtggt R: ctccgctgtaactctgggttt	200	60	1403124-1403323
<i>Xvir2</i>	(GGA) ₈	F: tccagattgagcaggaggtc R: tgctagaggaagcgtcagtt	286	60	2548903-2549188
<i>Xvir3</i>	(CATA) ₁₁	F: tgtaacacacaacgtttcca R: tagctagatagctgacctatga	263	56	2608942-2609204
<i>Xvir4</i>	(GAG) ₁₀	F: tgcaaccgcagcatggaaacc R: ctgtagccgcgcgatgggaat	241	63	2884273-2884513
<i>Xvir5</i>	(CTT) ₉	F: acatgcaatgaacgagcatct R: ggtgagcagaagcgaaaca	202	60	3603629-3603830
<i>cfb382</i>	(CT) ₁₅ (GT) ₁₂	F: ctgcagtctcatccgctgctt R: atggcttgatactggcaacc	196	55	5045716-5045911
<i>Xvir6</i>	(GTT) ₇	F: cagctccctccaatcttgc R: gccttgatgtagttgctcgtt	177	60	5838016-5838192
Хромосома 5BL					
<i>Xvir7</i>	(TCT) ₇	F: accaatgcaccaccaagaaa R: ttgtcttctgtcaacggcg	124	59	412458475-412458598
<i>Xvir8</i>	(CAA) ₇	F: catcagcattggctgctcctc R: gaacgcttgcaagagggtt	236	60	413068061-413068296
<i>Xvir9</i>	(ATGT) ₇	F: aggcccaacacgagctctaaa R: tgtgatcactcggttagctga	203	59	414820519-414820721
<i>Xvir10</i>	(GGT) ₇	F: cgatcaaccctgaatcttga R: ctccacaccacgaacga	299	58	417438317-417438615
<i>Xvir11</i>	(CCT) ₇	F: tcatacaggccagtaggcaaa R: gagagcaatatcaacgaccca	116	56	418114490-418114605
<i>Xgwm213</i>	(GA) ₃₅	F: tgcctggctcgttctatctc R: cttagcttagcactgtcgccc	184	65	418808253-418808436
<i>Xvir12</i>	(AAT) ₂₁	F: actttgaccaagttcggagg R: gctttgttgcatgttgatgt	287	60	419649442-419649728
<i>Xvir13</i>	(AGA) ₁₁	F: catcggatcgctggagtagat R: aactcgtaactaatgtaccgc	186	59	419931581-419931766
<i>Xvir14</i>	(TAA) ₁₇	F: gatctcgtagacgtgaattt R: ttactctcaagatcagagggc	248	57	421988445-421988692

Примечания: 1 – Жирным выделены SSR-локусы, оказавшиеся полиморфными по результатам апробации. 2 – Число повторов мотива, а также размер ПЦР-продукта дан для сорта Chinese Spring. 3 – Каждый прямой праймер удлинен с 5'-конца на последовательность, прямого праймера M13 (caccagctgtgtaaascgac).

ПЦР для идентификации аллелей генов *Rht-B1* и *Rht-D1*. Праймеры для детекции аллелей генов *Rht-B1* и *Rht-D1*, разработанные нами (Porotnikov et al., 2022), а также привлеченные из литературных источников (Ellis et al., 2002; Pearce et al., 2011; Li et al., 2013; Bazhenov et al., 2015; Lou et al., 2016) и ПЦР-программы к ним приведены в приложении 4.

Для большей специфичности dCAPS-анализа применяли метод вложенной ПЦР – первую ПЦР осуществляли в 25 мкл реакционной смеси с праймерами (BF/VIR.B1R), фланкирующими

участок локализации мутаций в гене *Rht-B1*, после чего полученный амплификат использовали в качестве матрицы для второй ПЦР с dCAPS-праймерами (B1bF/R, B1epF/B1eR) и CAPS-праймерами B1epF/B1pR.

Первый этап вложенной ПЦР проводили в 25 мкл реакционной смеси, содержащей 40 нг тотальной ДНК пшеницы; 1 × реакционный буфер; 1,5 мМ MgCl₂; 0,4 мМ каждого из dNTP's; по 0,5 мкМ прямого и обратного праймера и 0,75 ед. Taq-полимеразы (Диалат, Россия). Для большей специфичности программа ПЦР содержала функцию Touchdown: исходная температура отжига была на 4 градуса выше расчетной и понижалась на 0,5 градусов на цикл на протяжении 8 циклов (приложение 4). По 2 мкл полученных амплификатов отбирали в чистые пробирки, разводили водой в 50 раз и использовали в качестве матрицы во втором этапе ПЦР. Еще по 10 мкл отбирали для контроля успешности ПЦР путем электрофореза в агарозном геле. Остаток (около 12 мкл) обрабатывали рестриктазой *Bst*VII (СибЭнзим, Россия), генерируя тем самым CAPS-маркер аллеля *Rht-B1b*.

Второй этап вложенной ПЦР осуществляли в 20 мкл реакционной смеси, содержащей 4 мкл матрицы после первого раунда ПЦР; 1 × реакционный буфер; 2,5 мМ MgCl₂; 0,4 мМ каждого из dNTP's; по 0,5 мкМ прямого и обратного праймера и 0,75 ед. Taq-полимеразы (Диалат, Россия), программы для каждой пары праймеров также указаны в приложении 4. По 12 мкл амплификационной смеси отбирали для рестрикционного анализа, а остаток использовали для контроля ПЦР методом электрофореза.

В случае CAPS маркеров аллеля *Rht-D1b* и маркеров, выявляющих ретротранспозон в кодирующей области гена и вставки в промоторной областях, ПЦР проводили в стандартных условиях. Реакционная смесь (20 мкл) содержала 40 нг ДНК; 1 × реакционный буфер; 2,5 мМ MgCl₂; 0,4 мМ каждого из dNTP's; по 0,5 мкМ каждого из праймеров и 0,75 ед. Taq-полимеразы (Диалат, Россия). ПЦР-программы указаны в приложении 4.

Условия и программы для аллель-специфичной ПЦР соответствовали рекомендованным авторами (Ellis et al., 2002; Bazhenov et al., 2015).

ПЦР для идентификации аллелей генов *Vrn1*. Для определения аллельного состояния генов *Vrn-A1* (рецессивный аллель *vrn-A1*, а также доминантные *Vrn-A1a*, *Vrn-A1b* и *Vrn-A1c*), *Vrn-B1* (*vrn-B1*, *Vrn-B1a*, *Vrn-B1b*, *Vrn-B1c*) и *Vrn-D1* (*vrn-D1*, *Vrn-D1a*, *Vrn-D1b*) применяли ДНК-маркеры (приложение 5), подобранные из литературных источников (Yan et al., 2004; Fu et al., 2005; Zhang et al., 2012; Guo et al., 2015; Mutenko et al., 2016 a).

ПЦР проводили в 16 мкл реакционной смеси, содержащей 40 нг ДНК пшеницы; 1 × реакционный буфер; 2,5 мМ MgCl₂ (1,5 мМ – для праймеров Ex1/C/F и Intr1/A/R3); 0,4 мМ каждого из dNTP's; по 0,5 мкМ каждого из праймеров и 0,75 ед. Taq-полимеразы (Диалат, Россия).

Использовали следующие ПЦР-программы:

- для праймеров Ex1/C/F и Intr1/A/R3: предварительная денатурация 94°C – 3 мин 30 сек, 8 циклов [94°C – 45 сек, 63°C с понижением на 0,5° на 1 цикл – 1 мин 30 сек, 72°C – 1 мин], 32 цикла [94°C – 45 сек, 59°C – 45 сек, 72°C – 45 сек] и в заключение 72°C – 7 мин;
- для праймеров Vrn-A1-intr_F и Vrn-A1-intr_R: предварительная денатурация 94°C – 3 мин 30 сек, 37 циклов [94°C – 45 сек, 60°C – 30 сек, 72°C – 50 сек] и в заключение 72°C – 7 мин;
- для остальных праймеров программы ПЦР соответствовали указанным авторами (Yan et al., 2004; Fu et al., 2005; Zhang et al., 2012; Guo et al., 2015).

ПЦР для идентификации аллелей гена *Ppd-D1*. В реакции использовали три праймера, взятых из литературных источников (таблица 2.4). О наличии доминантного аллеля *Ppd-D1a*, ассоциированного с нейтральной реакцией на фотопериод, судили по присутствию ПЦР-фрагмента размером 288 п.н. Аллели *Ppd-D1b'*₄₅₃, *Ppd-D1'*₄₂₉ и *Ppd-D1b'*₄₁₄ (чувствительность к световому дню) детектировали по наличию ПЦР-продуктов 453, 429 или 414 п.н., соответственно.

Таблица 2.4 – Праймеры для выявления аллелей гена *Ppd-D1*

Аллель гена <i>Ppd-D1</i>	Участок гена и детектируемая мутация	Праймеры	Диагностический фрагмент (п.н.)	Литературный источник
<i>Ppd-D1a</i>	5'-UTR: делеция 2089 п.н.	Ppd-D1_F Ppd-D1_R1 Ppd-D1_R2	288	Beales et al., 2007; Huang et al., 2012
<i>Ppd-D1b'</i> ₄₅₃	5'-UTR: без делеций		453	
<i>Ppd-D1'</i> ₄₂₉	5'-UTR: делеция 24 п.н.		429	
<i>Ppd-D1b'</i> ₄₁₄	5'-UTR: делеции 24 и 15 п.н.		414	

Реакцию проводили в 16 мкл реакционной смеси, включающей 40 нг ДНК пшеницы; 1 х реакционный буфер; 1,5 мМ MgCl₂; 0,4 мМ каждого из dNTP's; по 0,5 мкМ каждого из праймеров и 0,75 ед. Taq-полимеразы (Диалат, Россия).

Программа для ПЦР была следующая: предварительная денатурация 94 °C – 3 мин 30 сек, 38 циклов [94 °C – 45 сек, 55 °C – 30 сек, 72 °C – 45 сек] и в заключение 72 °C – 7 мин.

Рестрикция

ПЦР-продукты, полученные с помощью праймеров для CAPS- и dCAPS-маркеров аллелей генов *Rht-B1* и *Rht-D1* обрабатывали рестриктазами фирмы «СибЭнзим» (Россия), указанными в приложении 4. Гидролиз ПЦР-продуктов проводили с использованием протокола фирмы-изготовителя.

Электрофорез

Маркеры *cfb341*, *TGlc2*, *gene12* и *gene13*, сцепленные с геном *SKr*. По ходу работы разделение продуктов амплификации проводили в трех различных системах электрофореза.

Первоначальное разделение продуктов амплификации, сгенерированных праймерами, *cfb341* и *gene12*, проводили соответственно в 2,5% и 3,0% агарозных гелях в буфере TBE (0,89 М трис, 0,89 М борная кислота, 0,02 М ЭДТА) при напряжении 5 В/см длины геля, с добавлением бромистого этидия и визуализацией результатов в проходящем УФ свете при помощи системы GelDocXR фирмы BioRad (USA). В качестве стандартов молекулярного веса использовали маркер «100 bp+1.5 Kb+3 Kb» (СибЭнзим, Россия).

Электрофорез ПЦР-продуктов, полученных с использованием праймеров *TGlc2* и *gene13* изначально проводили в проточных 8% ПААГ на установке LI-COR 4300S с лазерной детекцией фрагментов, меченных IRD700 или IRD800 (LI-COR, Inc., USA). В качестве стандартов молекулярного веса использовали маркеры «50–350 bp» и «50–700 bp» (LI-COR, Inc., USA).

На окончательном этапе разделение амплификатов, полученных от ПЦР с праймерами *cfb341*, *TGlc2*, *gene12* и *gene13*, осуществляли путем капиллярного электрофореза на установке Нанофор 05 (Алексеев и др., 2012) с лазерной детекцией фрагментов, меченных FAM, ROX, R6G или TAMRA (Синтол, Россия). Все полученные данные были сопоставлены с результатами электрофорезов в других системах.

SSR-маркеры. Электрофоретическое разделение ПЦР-продуктов осуществляли в денатурирующих полиакриламидных гелях (ПААГ) с использованием двух различных систем:

– электрофорез в проточных 8% ПААГ на установке LI-COR 4300S с лазерной детекцией фрагментов, меченных IRD700 или IRD800. В качестве стандартов молекулярного веса использовали маркеры «50–350 bp» и «50–700 bp» (LI-COR, Inc., USA);

– капиллярный электрофорез на установке Нанофор 05 с лазерной детекцией фрагментов, меченных FAM, ROX, R6G или TAMRA. В качестве стандартов молекулярного веса применяли маркеры СД-450 и СД-600 (Синтол, Россия).

Такой подход позволил наглядно сопоставить результаты классического гелевого электрофореза и капиллярного электрофореза.

ДНК-маркеры аллелей генов *Rht-B1*, *Rht-D1*, *Vrn-A1*, *Vrn-B1*, *Vrn-D1* и *Ppd-D1*. Для определения аллелей генов, контролирующих высоту растений, тип развития и фотопериодическую чувствительность, разделение ПЦР-продуктов осуществляли электрофорезом в 2,0-3,0% агарозных гелях. Состав буфера для электрофореза и остальные условия соответствовали приведенным выше.

2.6 Статистическая обработка данных

Диагностическую эффективность аллелей локусов в идентификации генотипов с высокой или низкой скрещиваемостью (E_f) определяли как соотношение числа генотипов с правильной ассоциацией аллель-признак к общему числу генотипов (в %) (Totsky et al., 2021).

Достоверность ассоциации оценивали при помощи критерия χ^2 с поправкой Йейтса, позволяющего снизить вероятность ложноположительных результатов при небольших объемах выборок (ожидаемые частоты $<10\%$). Корреляцию аллелей локусов с уровнем скрещиваемости с рожью (r_s) рассчитывали с помощью коэффициента корреляции Спирмена (использовали программу Statistica v.12 (StatSoft, Inc., USA)).

При расчете диагностической эффективности аллелей локусов, критерия χ^2 и коэффициента корреляции Спирмена уровень скрещиваемости линий представляли в бинарном виде, где 0 – низкая скрещиваемость (0,0-15,0%), 1 – высокая (25,0-100%).

Для оценки полиморфизма SSR-локусов использовали величину (меру) информационного полиморфизма – PIC (polymorphic information content), которая показывает их дискриминационную способность. Значения вычисляли по формуле

$$PIC = 1 - \sum(p_i^2), \quad (1)$$

где p_i – частота i аллеля, выявленного в данной выборке (Nei, 1973).

При помощи программы GenAlEx v. 6.503 (Peakall, Smouse, 2012) рассчитывали число эффективных аллелей – N_e , эквивалентное числу аллелей, характеризующих реальную генетическую вариабельность локуса.

Кластерный анализ проводили с применением программы DARwin v. 6.0.21 (CIRAD, France) для базы с результатами генотипирования, представленной в виде бинарной матрицы. Дендрограмму строили по J. H. Ward (1963). Расстояния рассчитывали по L. Dice (1945) с использованием бутстрэп-поддержки (10000 итераций).

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Оценка отдельных растений образцов мягкой пшеницы и синтетической гексаплоидной пшеницы по скрещиваемости с рожью посевной

Опыты по гибридизации отдельных растений из всех трех наборов образцов пшеницы, рассмотренных в главе 2 (раздел 2.1), с рожью посевной проводили с целью подтверждения или установления впервые уровня их скрещиваемости с этим видом. Это было необходимо для выяснения связи между наличием различных аллелей маркерных локусов у отдельных растений (генотипов) и проявлением признака. Как было указано ранее под «высокой» скрещиваемостью понимали завязываемость гибридных зерновок 25,0-100,0%, «низкой» – 0,0-15,0%.

Проверка скрещиваемости с рожью растений образцов мягкой пшеницы с известной завязываемостью гибридных зерновок. За период с 2020 по 2023 гг. была изучена скрещиваемость с рожью у 76 образцов МП, входящих в первый набор (таблица 3.1.1, приложение 1). Оценка проведена для 175 растений, в среднем по $2,3 \pm 0,1$ растения на образец. Еще для 29 образцов в литературных источниках были найдены данные по их способности завязывать гибридные зерновки с рожью. В результате фенотипирования с учетом данных литературы выделено несколько групп образцов.

С высокой скрещиваемостью с рожью (28,8-93,3%) – 57 образцов, в том числе:

- 41 образец, при изучении 83 растений которых нами подтверждена их высокая скрещиваемость с рожью (28,8-93,3%), известная по литературным данным (Ригин, 1976; Snape et al., 1979; Суриков, Киссель, 1985; Zeven, 1987; Rui et al., 1995; Пюккенен, 2007) (таблица 3.1.1, приложение 1);

- 15 образцов, у которых высокая скрещиваемость с рожью ранее была показана другими исследователями (Суриков, Киссель, 1985; Rui et al., 1996; Пюккенен, 2007) и в данной работе не проверялась;

- образец стародавней МП из Китая (к-28573 I 11), высокая скрещиваемость с рожью ($39,3 \pm 7,7$) для двух растений которого установлена нами.

С низкой скрещиваемостью с рожью (0,0-10,0%) – 47 образцов (таблица 3.1.1, приложение 1). Из них:

- 19 образцов, для 53 растений которых была подтверждена низкая завязываемость гибридных зерновок, известная по данным литературы (Riley, Chapman, 1967; Ригин, 1976; Суриков, Киссель, 1985; Рехметулин, 1987; Tixier et al., 1998; Cai et al., 2016 a).

– 14 образцов, у которых низкая скрещиваемость с рожью была описана другими исследователями и в данной работе не проверялась (Krolow, 1970; Ригин, 1976; Zeven, 1987; Bertin et al., 2009; Рубец, 2016);

– семь образцов, низкая скрещиваемость 14 растений которых была определена впервые;

– семь образцов, у которых мы не смогли подтвердить высокую скрещиваемость (51,6-84,0%), указанную для них в литературе (Ригин, 1976; Zeven, 1987; Рехметулин, 1988; Rui et al., 1998). Было проверено как минимум два растения каждого образца, но все они имели низкую (10,5% и ниже) завязываемость гибридных зерновок при опылении рожью.

Гетерогенной по скрещиваемости с рожью оказалась линия (к-69062 Л6-ХСР), отобранная В. П. Пюккенен (2007) из образца к-42445 (Китай). На протяжении двух лет одно из изученных растений и его потомок не завязывали гибридные зерновки после опыления рожью, а другое растение и его потомок имели скрещиваемость 16,0 и 25,0%. Мы изучали оба этих растения, которые отнесли к группам с низкой и высокой скрещиваемостью с рожью, соответственно.

Таким образом, в состав первого набора вошло 57 образцов, растения которых обладали высокой скрещиваемостью с рожью, 47 образцов – с низкой, а также один гетерогенный образец (таблица 3.1.1, приложение 1).

Таблица 3.1.1 – Скрещиваемость с рожью посевной ($2n = 2x = 14$) отдельных растений 105 образцов мягкой пшеницы

№ по каталогу ВИР (к-)	Название образца (номера изученных растений)	Страна (по ISO 3166-1)	Скрещиваемость с рожью (в %)		№ по каталогу ВИР (к-)	Название образца (изученные растения)	Страна (по ISO 3166-1)	Скрещиваемость с рожью (в %)	
			по литературе ¹	оценка 2021-2023 ²				по литературе ¹	оценка 2021-2023 ²
Высокая скрещиваемость с рожью (по данным литературы + подтверждено нашей фенотипической оценкой), N = 41									
23806	Punjab Tipe 8A (p.1-4)	PAK	28,8 (1)	32,6±4,9	62782	Л42-ХСР ³ (p.1, 2)	CHN	71,4 (3)	37,9±2,2
24961	Akadaruma (p.3-5)	JPN	70,8 (2)	64,6±12,7	62899	Л32-ХСР ³ (p.3)	CHN	51,4 (3)	58,3
28574	Л35-ХСР ³ (p.2, 3)	CHN	39,3 (3)	55,6±0,0	69057	Л11-ХСР (p.1, 2)	CHN	54,0 (3)	63,4±0,9
28681	Л37-ХСР ³ (p.4)	CHN	43,0 (3)	68,8	69059	Л3-ХСР (p.1, 2)	CHN	56,0 (3)	70,6±1,6
28695	Л30-ХСР ³ (p.4)	CHN	85,7 (3)	52,6	69060	Л4-ХСР (p.3)	CHN	59,2 (3)	33,0
29045	Л33-ХСР ³ (p.1, 2)	CHN	72,7 (3)	45,0±5,0	69061	Л5-ХСР (p.1, 2)	CHN	41,9 (3)	63±7,0
38587	Сибирка Ярцевская (p.1-4)	RUS	79,3 (2)	43,7±4,8	69063	Л17-ХСР (p.4)	CHN	41,9 (3)	69,0
41889	Bage (p.1-3)	BRA	65,9 (1)	36,6±12,9	69064	Л8-ХСР (p.1, 2)	CHN	67,9 (3)	40,1±4,4
42052	к-42052 (p.2)	CHN	66,0 (2)	33,3	69065	Л9-ХСР (p.1, 2)	CHN	75,0 (3)	68,8±6,3
42912	Л12-ХСР ³ (p.1, 2)	CHN	59,1 (3)	82,5±2,5	69066	Л10-ХСР (p.1, 2)	CHN	58,5 (3)	43,8±0,0
42990	Л40-ХСР ³ (p.1, 2)	CHN	56,0 (3)	53,6±3,6	69067	Л11-ХСР (p.1, 2)	CHN	63,0 (3)	78,2±3,2
43080	Chinese Spring (p.1-3)	CHN	79,8 (2)	61,4±16,4	69068	Л14-ХСР (p.3)	CHN	56,3 (3)	81,3±0,0
46119	Л19-ХСР ³ (p.3)	CHN	67,1 (3)	92,0	69070	Л16-ХСР (p.1, 2)	CHN	58,2 (3)	65,0±15,0
46333	Gamut (p.1-4)	AUS	58,0 (4)	57,0±4,4	69071	Л18-ХСР (p.1, 2)	CHN	76,0 (3)	71,9±9,4
51371	Norin 16 (p.1-3)	JPN	81,1 (5)	44,7±10,4	69072	Л21-ХСР (p.2)	CHN	93,3 (3)	77,0±0,0
59275	Линия 421 (p.1-3)	CHN	69,9 (6)	49,2±3,7	69073	Л22-ХСР (p.1, 2)	CHN	63,3 (3)	64,9±28,9
59276	Линия 427 (p.1, 2)	CHN	68,4 (6)	65,6±4,5	69074	Л23-ХСР (p.1, 2)	CHN	74,3 (3)	82,5±7,5
59277	Линия 430 (p.2)	CHN	83,2 (6)	93,3	69075	Л24-ХСР (p.1, 2)	CHN	60,0 (3)	61,0±2,7
59278	Линия 432 (p.1, 2)	CHN	81,6 (6)	51,6±4,0	69077	Л27-ХСР (p.1, 2)	CHN	54,6 (3)	57,7±13,7
61249	Norin 68 (p.3)	JPN	73,1 (5)	36,0	69078	Л41-ХСР (p.1-3)	CHN	62,2 (3)	86,4±7,3
62541	Л31-ХСР ³ (p.1, 2)	CHN	47,5 (3)	79,2±4,2					
Высокая скрещиваемость с рожью (по данным литературы), N = 15									
28681	Л29-ХСР ³	CHN	50,0 (3)	—	28695	Л38-ХСР ³	CHN	85,3 (3)	—

Продолжение таблицы 3.1.1

№ по каталогу ВИР (к-)	Название образца (номера изученных растений)	Страна (по ISO 3166-1)	Скрещиваемость с рожью (в %)		№ по каталогу ВИР (к-)	Название образца (номера изученных растений)	Страна (по ISO 3166-1)	Скрещиваемость с рожью (в %)	
			по литературе ¹	оценка 2021-2023 ²				по литературе ¹	оценка 2021-2023 ²
42146	ЛЗ4-ХСР ³	CHN	48,4 (3)	—	57413	Norin 56	JPN	71,2 (5)	—
43981	Л25-ХСР ³	CHN	48,0 (3)	—	57414	Norin 57	JPN	82,7 (5)	—
44048	ЛЗ6-ХСР ³	CHN	66,7 (3)	—	57415	Norin 63	JPN	58,0 (5)	—
44435	Л28-ХСР ³	CHN	65,4 (3)	—	59273	Линия 405	CHN	33,9 (6)	—
57397	Norin 34	JPN	67,1 (5)	—	59274	Линия 407	CHN	52,7 (6)	—
57405	Norin 45	JPN	84,6 (5)	—	69076	Л26-ХСР	CHN	50,0 (3)	—
57409	Norin 52	JPN	54,2 (5)	—					
Высокая скрещиваемость с рожью (по данным нашей оценки), N = 1									
28573	I 11 (p.4, 5)	CHN		39,3±7,7					
Низкая скрещиваемость с рожью (по данным литературы + подтверждено нашей оценкой), N = 19									
4132	Хлудовская (p.4, 5)	RUS	1,0 (2)	0,0	37393	к-37393 (p.4-6)	RUS	2,1 (2)	0,0±0,0
5784	Colorado 50 (p.3-6)	USA	4,9 (2)	1,2±1,2	41725	Karn II (p.4-6)	SWE	0,0 (2)	0,0±0,0
17167	к-17167 (p.1-3)	SYR	0,0 (2)	3,2±3,2	41764	Klein Sin Pival (p.4, 5)	ARG	1,0 (8)	3,6±3,6
23568	Pusa 52 (p.3, 5)	IND	2,0 (2)	4,0±4,0	41989	Acadia (p.3-6)	CAN	3,1 (2)	1,2±1,2
25665	Hope (p.1-3)	USA	2,7 (7)	0,0±0,0	42394	Ma-zha-mai (p.1, 2)	CHN	5,0 (9)	6,3±6,3
25712	Pusa 111 (p.3-5)	IND	0,0 (2)	0,0±0,0	43099	Red Bobs 222 (p.3-6)	CAN	4,0 (2)	1,3±1,3
30137	Балаганка (p.1-3)	RUS	1,8 (2)	3,7±3,7	43920	Мироновская 808 (p.1)	UKR	1,0 (6)	7,1
33531	Desi (p.3-6)	IND	0,9 (2)	3,7±2,4	50738	Courtot (p.1)	FRA	10,0 (10)	7,0
37319	Опочецкая (p.3, 5)	RUS	4,6 (2)	3,0±3,0	51153	Klein 157 (p.3-6)	ARG	0,5 (8)	3,3±3,3
37320	Ледовка (p.4-6)	BEL	3,6 (2)	0,0±0,0					
Низкая скрещиваемость с рожью (по данным литературы), N = 14									
33785	Mara	CSK	2,0 (11)	—	49878	Maris Hobbitt	GBR	0,0 (12)	—
35841	Cheyenne	USA	9,1 (1)	—	64312	Красота	RUS	6,3 (13)	—
38179	Ostka Lopuska	POL	1,4 (2)	—	64350	Батько	RUS	2,2 (13)	—

Продолжение таблицы 3.1.1

№ по каталогу ВИР (к-)	Название образца (номера изученных растений)	Страна (по ISO 3166-1)	Скрещиваемость с рожью (в %)		№ по каталогу ВИР (к-)	Название образца (номера изученных растений)	Страна (по ISO 3166-1)	Скрещиваемость с рожью (в %)	
			по литературе ¹	оценка 2021-2023 ²				по литературе ¹	оценка 2021-2023 ²
64584	Восторг	RUS	1,3 (13)	—	65221	Васса	RUS	0,2 (13)	—
64587	Нота	RUS	3,9 (13)	—	65757	Немчиновская 24	RUS	2,0 (13)	—
64610	Грация	RUS	1,4 (13)	—	65758	Немчиновская 57	RUS	2,1 (13)	—
65077	Ариадна	RUS	7,8 (13)	—	65759	Московская 40	RUS	5,4 (13)	—
Низкая скрещиваемость с рожью (по данным нашей оценки), N = 7									
45291	Lancer (p.1)	USA	—	6,0	52950	Moro of Sind (p.1, 2)	PAK	—	0,7±0,7
45900	Festiguay (p.4-6)	AUS	—	0,0±0,0	55863	к-55863 (p.1)	PRT	—	0,0±0,0
49089	к-49089 (p.4-6)	AFG	—	0,0±0,0	63279	Julius (p.1)	AUT	—	0,0±0,0
51610	Sadovska Ranozrejka 3 (p.3-5)	BGR	—	3,2±2,1					
Низкая скрещиваемость с рожью по данным нашей оценки (высокая - по данным литературы), N = 7									
34883	Смесь Линий 04/1 (p.1-3)	RUS	51,6 (2)	4,0±2,3	60727	AM-808 (p.1, 2)	RUS	84,0 (14)	0,0±0,0
41529	Красная Звезда (p.1-3)	KAZ	72,0 (1)	0,0±0,0	60811	Zaragosa S75 (p.1-3)	MEX	61,5 (1)	0,0±0,0
45148	Norin 27 (p.1-3)	JPN	82,8 (5)	5,4±3,0	61559	Fukuho Komugi (p.1-4)	JPN	67,8 (5)	0,0±0,0
60726	MA-808 (p.1-3)	RUS	84,0 (14)	0,0±0,0					
Гетерогенность по скрещиваемости с рожью, N = 1									
69062	Л6-ХСР (p.1)	CHN	55,5 (3)	0,0					
	Л6-ХСР (p.2)			25,0					

Примечания: 1 – В скобках указаны следующие литературные источники по скрещиваемости образцов МП с рожью: (1) – Zeven, 1987; (2) – Ригин, 1976; (3) – Пюккенен, 2007; (4) – Snape et al., 1979; (5) – Rui et al., 1995; (6) – Суриков, Киссель, 1985; (7) – Riley, Chapman, 1967; (8) – Рехметулин, 1987; (9) – Cai et al., 2016 a; (10) – Tixier et al., 1998; (11) – Krolow, 1970; (12) – Bertin et al., 2009; (13) – Рубец, 2016; (14) – Рехметулин, 1988. 2 – Приведены средние значения скрещиваемости по изученным растениям±стандартная ошибка среднего. 3 – Для данных линий Л№-ХСР приведены каталожные номера образцов, из которых они были получены.

Определение скрещиваемости с рожью образцов стародавней мягкой пшеницы из стран Азии, охарактеризованных по локусам, сцепленным с геном *SKr*. Поскольку образцы МП второго набора использовали для оценок географического разнообразия аллелей маркерных локусов, сцепленных с геном *SKr*, генетического разнообразия образцов коллекции ВИР, то предварительно их скрещиваемость с рожью не проверяли. Однако, когда по результатам молекулярного скрининга у части образцов с яровым типом развития были выявлены новые аллели маркерных локусов, то в 2023 г. эти образцы, а также небольшое число образцов с часто встречающимися аллелями, были высеяны в поле и у них определена скрещиваемость с рожью. Всего из 108 образцов второго набора по скрещиваемости с рожью было изучено 28 (63 растения), в среднем по $2,3 \pm 0,2$ растения на образец (таблица 3.1.2, приложение 2). Из них:

- высокую (30,0-59,4%) завязываемость гибридных зерновок продемонстрировали растения шести образцов (девять растений), в том числе из Афганистана (к-12352), Монголии (к-7997, к-8034) и Пакистана (к-14958, к-14960, к-23808);
- низкая (0-10,1%) скрещиваемость была определена для 22 образцов (54 растения), в том числе из Афганистана (четыре образца), Монголии (три), Индии (восемь), Ирана (два) и Пакистана (пять образцов).

Таким образом, для молекулярного скрининга второй набор был представлен 108 образцами МП, из которых растения шести образцов – с высокой завязываемостью (30,0-59,4%) гибридных зерновок, растения 22 образцов – с низкой (0,0-10,1%) и 80 – с неизученной (таблица 3.1.2, приложение 2).

Таблица 3.1.2 – Скрещиваемость с рожью посевной ($2n = 2x = 14$) растений 28 образцов стародавней мягкой пшеницы из стран Азии

№ по каталогу ВИР (к-)	Название образца ¹	Страна происхождения (по ISO 3166-1)	Изученные по скрещиваемости с рожью растения, из них:		Скрещиваемость с рожью (в %) ²
			всего	в молекулярном скрининге	
Высокая скрещиваемость с рожью (по данным нашей оценки), N = 6					
7997	—	MNG	1	p.2	35,7
8034	—	MNG	2	p.2, 3	59,4±3,1
12352	—	AFG	1	p.2	35,7
14958	8A	PAK	2	p.2, 3	51,3±1,3
14960	8B	PAK	2	p.2, 3	41,7±8,4
23808	Punjab Tipe 23	PAK	1	p.2	30,0
Низкая скрещиваемость с рожью (по данным нашей оценки), N = 22					
5158	Bushak	IND	2	p.2	0,0±0,0
5504	Type No.9	PAK	4	p.1	0,0±0,0
5507	Type No.11	PAK	1	0	0,0
5518	Type No.19H	PAK	2	0	7,0±7,0
5545	Lal of Batala	IND	3	p.2	2,0±2,0
5589	Bihar 41	IND	3	0	0,0±0,0
5601	Bihar 55	IND	3	0	0,0±0,0
7909	—	MNG	3	p.2	0.0±0.0

Продолжение таблицы 3.1.2

№ по каталогу ВИР (к-)	Название образца ¹	Страна происхождения (по ISO 3166-1)	Изученные по скрещиваемости с рожью растения, из них:		Скрещиваемость с рожью (в %) ²
			всего	в молекулярном скрининге	
7911	—	MNG	3	p.2	0,0±0,0
7926	—	MNG	2	0	0,0±0,0
12367	—	AFG	2	0	10,1±2,4
12382	—	AFG	2	0	0,0±0,0
12422	—	AFG	2	0	0,0±0,0
12480	—	AFG	2	0	0,0±0,0
21195	Hindi	IND	2	0	6,9±0,2
21776	—	IRN	2	0	0,0±0,0
22258	—	IND	2	0	0,0±0,0
22261	—	IND	1	0	0,0±0,0
22308	Lyallpur 9	IND	3	p.2	0,0±0,0
23797	Punjab Tipe 19	PAK	4	p.2	1,5±1,5
23801	Punjab Tipe 17	PAK	3	0	0,0±0,0
32848	—	IRN	3	0	0,0±0,0

Примечания: 1 – Прочерками указаны образцы без названия. 2 – Приведены средние значения скрещиваемости по изученным растениям±стандартная ошибка среднего.

Оценка скрещиваемости с рожью образцов синтетической гексаплоидной пшеницы.

За 2020-2023 гг. по скрещиваемости с рожью из 27 образцов СГП было изучено 23 (42 растения), в среднем по 1,8±0,2 растений на образец. (таблица 3.1.3, приложение 3).

С высокой скрещиваемостью с рожью было выявлено 12 образцов, представленных 19 растениями, в том числе:

- семь образцов, у растений которых мы подтвердили их высокую (25,0-70,0%) скрещиваемость по литературным данным (Yang et al., 2007);
- образцы к-65484, к-65490, к-65496, растения которых имели высокую скрещиваемость (33,3-47,9%), определенную впервые;
- образцы к-65492 и к-65508, у которых все изученные растения обладали высокой скрещиваемостью с рожью (27,3-71,0%), хотя по литературным данным (Yang et al., 2007) они должны были иметь низкую завязываемость гибридных зерновок. Растения этих двух образцов в дальнейшем относили к группе с высокой скрещиваемостью.

В группу с низкой (0,0-15,0%) скрещиваемостью с рожью вошло 15 образцов (таблица 3.1.3), в том числе:

- семь образцов, для растений которых нами была подтверждена низкая скрещиваемость;
- образцы к-65485, к-65486, к-65505, к-65507, имевшие низкую скрещиваемость (7,7-15,0%) по литературным источникам (Yang et al., 2007);
- образцы к-65494 и к-65500 с низкой скрещиваемостью (0,0-7,7) изученных нами растений;

– образцы к-65513 и к-65515, которые по литературным данным были с высокой (45,0%) скрещиваемостью (Yang et al., 2007), а по результатам проведенного нами фенотипирования они при опылении рожью не завязывали гибридных зерновок (изучено по три растения каждого образца). На основании полученных данных мы их отнесли к группе с низкой скрещиваемостью.

Таким образом, третий набор был представлен 27 образцами СГП, из них растения 12 образцов с высокой скрещиваемостью с рожью (25,0-71,0%) и растения 15 образцов – с низкой (0,0-15,0%) (таблица 3.1.3, приложение 3).

Таблица 3.1.3 – Скрещиваемость с рожью посевной ($2n = 2x = 14$) растений 27 образцов синтетической гексаплоидной пшеницы

№ по каталогу ВИР (номера изученных растений)	Скрещиваемость с рожью		№ по каталогу ВИР (номера изученных растений)	Скрещиваемость с рожью (в %)	
	по Yang et al., 2007	оценка 2021-2023 ¹		по Yang et al., 2007	оценка 2021-2023 ¹
Высокая скрещиваемость с рожью (по данным литературы + подтверждено нашей оценкой)					
к-65483 (p.1)	55,0	27,1±5,6 ²	к-65514 (p.1)	65,0	25,0
к-65497 (p.3)	25,0	50,0	к-65516 (p.1, 3)	35,0	47,3±16,1
к-65504 (p.1, 2)	35,0	31,6±5,6	к-65518 (p.2)	35,0	25,0
к-65506 (p.1, 4)	70,0	50,2±6,2			
Высокая скрещиваемость с рожью (по данным нашей оценки)					
к-65484 (p.1)	—	33,3	к-65496 (p.1)	—	47,9±14,6 ²
к-65490 (p.1, 2)	—	40,4±9,6			
Высокая скрещиваемость с рожью по данным нашей оценки (низкая - по данным литературы)					
к-65492 (p.1, 2)	15,0	38,8±4,6	к-65508 (p.2, 4, 5)	2,5	43,0±14,2
Низкая скрещиваемость с рожью (по данным литературы + подтверждено нашей оценкой)					
к-65487 (p.1)	15,0	0,0	к-65503 (p.3)	15,0	0,0
к-65495 (p.1-3)	2,5	1,9±1,9	к-65509 (p.1-3)	2,5	0,0±0,0
к-65501 (p.1, 2)	2,5	7,5±0,8	к-65517 (p.1, 2)	2,5	0,0±0,0
к-65502 (p.4)	15,0	0,0			
Низкая скрещиваемость с рожью (по данным литературы)					
к-65485	7,5	—	к-65505	15,0	—
к-65486	7,5	—	к-65507	7,5	—
Низкая скрещиваемость с рожью (по данным нашей фенотипической оценки)					
к-65494 (p.1-3, 5)	—	0,0±0,0	к-65500 (p.2)	—	7,7
Низкая скрещиваемость с рожью по данным нашей оценки (высокая - по данным литературы)					
к-65513 (p.1-3)	45,0	0,0±0,0	к-65515 (p.1, 2)	45,0	0,0±0,0

Примечания: 1 – Приведены средние значения скрещиваемости по изученным растениям±стандартная ошибка среднего; 2 – Приведены данные по скрещиваемости потомков одного растения за три (к-65483 (р.1)) и два (к-65496 (р.1)) года.

Итак, по результатам проведенных скрещиваний МП и СГП с рожью посевной, растения были объединены в группы с высокой и низкой скрещиваемостью. Суммарно, высокой завязываемостью гибридных зерновок обладали 63 образца МП и 12 СГП, из них 96 растений от 48 образцов МП и 19 растений от 12 образцов СГП изучены по скрещиваемости с рожью в этом исследовании. Низкой скрещиваемостью характеризовались 69 образцов МП и 15 – СГП, из них нами фенотипировано 55 (143 растения) и 11 (22 растения) образцов, соответственно. Объёмы

проанализированных растений позволили нам апробировать ДНК-маркеры генов *SKr* и *Kr1* с целью определения их диагностической эффективности в идентификации МП и СГП с высокой/низкой скрещиваемостью с рожью.

3.2 Молекулярный скрининг гексаплоидной пшеницы коллекции ВИР с помощью описанных в литературе маркеров, сцепленных с геном *SKr*

В данном разделе последовательно приведены результаты молекулярного скрининга трёх описанных выше наборов растений (генотипов), представляющих образцы МП и СГП. Важно отметить, что характеристика образцов, приведенная ниже, дана только основе изучения этих растений. Скрининг генотипов растений проводили с привлечением четырех ДНК-маркеров (*cfb341*, *gene12*, *TGlc2*, *gene13*), сцепленных с геном *SKr*. Маркеры взяты из литературных источников (Alfares et al., 2009; Bouguennec et al., 2018).

Основные задачи проведения скрининга:

1. Охарактеризовать разнообразие генотипов растений МП и СГП по маркерным локусам, сцепленным с геном *SKr*;
2. Определить диагностическую эффективность аллелей локусов в выявлении генотипов МП и СГП с высокой/низкой завязываемостью гибридных зерновок при опылении рожью;
3. Описать географическое разнообразие аллелей маркерных локусов, сцепленных с геном *SKr*, а также гаплотипы сформированных выборок растений (генотипов).

Решение перечисленных выше задач позволит определить, поможет ли использование ДНК-маркеров гена *SKr* сократить время на поиск совместимых/несовместимых с рожью генотипов, наметить пути поиска новых генотипов, несущих редкие аллели, в том числе ассоциированные с высокой скрещиваемостью с рожью.

Следует отметить, что в процессе проведения скрининга мы использовали различные системы электрофоретического разделения ПЦР-продуктов, что позволило сопоставить результаты и подобрать оптимальный метод для каждого из маркеров. Так, для разделения ПЦР-продуктов, сгенерированных праймерами *cfb341* и *gene12* первоначально применяли агарозный гель (раздел 3.2.1). Для праймеров *TGlc2* и *gene13* использовали электрофорез в ПААГ на установке LI-COR 4300S (см. раздел 3.2.1) (Поротников и др., 2022). Позже для всех четырех маркеров разделение ПЦР-продуктов проводили на капиллярном генетическом анализаторе Нанофор 05 (разделы 3.2.2, 3.2.3), с целью уточнения размеров выявляемых фрагментов (аллелей локусов) и сопоставления результатов (Поротников и др., 2025). В итоге, неправильно выделенный гаплотип #10 (Поротников и др., 2022) был удален, поскольку для генотипов образцов Moro of Sind и Л42-ХСР были неточно определены размеры аллелей маркерных локусов

cfb341 и *gene12*. Для всех остальных генотипов сопоставление результатов электрофореза не выявило случаев расхождения в полученных данных.

3.2.1 Характеристика растений 105 образцов мягкой пшеницы с известной скрещиваемостью с рожью

Молекулярный скрининг первого набора из 105 образцов МП с известной скрещиваемостью с рожью (охарактеризовано 392 растения) показал, что среди них шесть были гетерогенными, то есть отдельные растения, представляющие образец, отличались друг от друга по размерам выявленных у них фрагментов, которые мы рассматривали как аллели локусов *cfb341*, *TGlc2*, *gene12* и *gene13* (приложение 1). Для таких образцов учитывали все разнообразие аллелей этих локусов. Поэтому всего для 105 образцов было выявлено 111 генотипов, из них 61 относились к группе с высокой скрещиваемостью с рожью и 50 – с низкой. Все рассмотренные ниже результаты базируются на анализе полученных данных по этим 111 генотипам (рисунок 3.2.1).

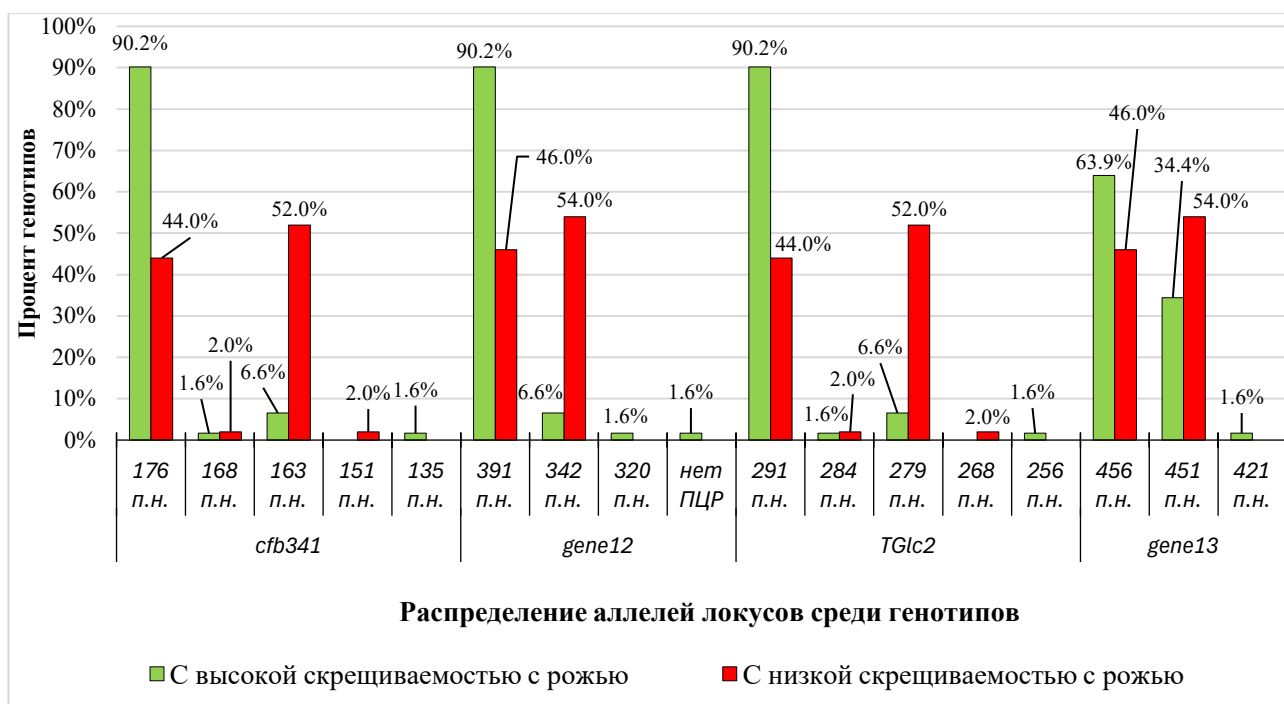


Рисунок 3.2.1 – Встречаемость аллелей локусов, сцепленных с геном *SKr*, у растений (генотипов) мягкой пшеницы с высокой (всего 61) и с низкой (50) скрещиваемостью с рожью

Скрининг с привлечением маркера *cfb341*. Для локуса *cfb341* всего было выявлено пять аллелей (рисунок 3.2.1), два из которых соответствовали описанным в литературе (рисунок 3.2.2) (Bouguennec et al., 2018). Чаще других (у 69,4% изученных генотипов) встречался фрагмент размером 176 п.н. (аллель *cfb341_176*). Согласно литературным данным, этот аллель

ассоциирован с высокой скрещиваемостью с рожью, и, действительно, он был выявлен у 90,2% генотипов с данным признаком. В то же время в группе с низкой завязываемостью гибридных зерновок аллель *cfb341_176* обнаружен с гораздо меньшей частотой (44,0%). Вторым по распространенности оказался аллель *cfb341_163*, характерный для генотипов с низкой скрещиваемостью с рожью. Его доля во всей выборке составила 27,0%, при этом у генотипов с низкой завязываемостью гибридных зерновок он встречался с частотой 52,0%, а среди генотипов с высокой завязываемостью – только 6,6% (рисунок 3.2.1).

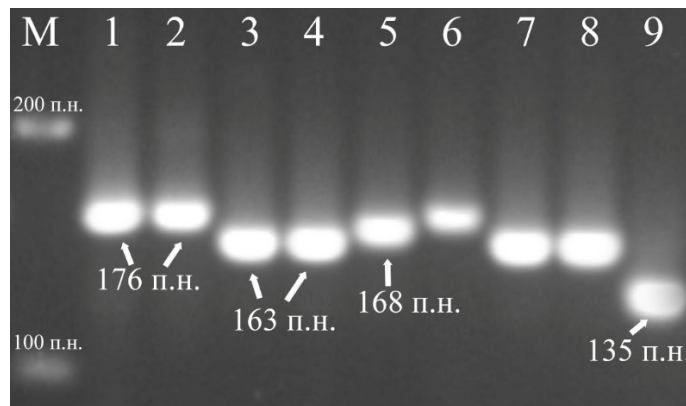


Рисунок 3.2.2 – Разнообразие аллелей в локусе *cfb341*, сцепленном с геном *SKr*. Цифрами обозначены растения следующих образцов МП: 1 – к-34080 Chinese Spring (р.1, 2); 3, 4 – к-4132 Хлудовская (р.1, 2); 5 – к-23806 Punjab Tіre 8a (р.1, 2); 6 – к-24961 Akadaruma (р.1); 7, 8 – к-34883 (р.1, 2); 9 – к-38587 Сибирка Ярцевская (р.2). М – маркер молекулярного веса «100 bp+1.5 Kb+3 Kb» (СибЭнзим, Россия). Электрофорез проводился в 3% агарозном геле.

Три других аллеля – *cfb341_135*, *cfb341_151* и *cfb341_168* – выявлены нами впервые (Поротников и др., 2022), в выборке они были редкими или уникальными. Аллель *cfb341_168* присутствовал у растений образца к-23806 – Punjab Tіre 8A, обладающего высокой скрещиваемостью с рожью, а также у генотипа несовместимого с рожью образца к-52950 – Moro of Sind (р.1), гетерогенного по выявленным аллелям локусов. Оба этих образца происходили из Пакистана. У другого генотипа образца Moro of Sind (р.2, 3) выявлен аллель *cfb341_151*. Наконец, аллель *cfb341_135* был идентифицирован у двух растений гетерогенного образца к-38587 Сибирка Ярцевская (р.2, 3) с высокой завязываемостью гибридных зерновок и происхождением из Красноярского края (Россия).

Скрининг с привлечением маркера *gene12*. Для локуса *gene12* нами выявлено четыре типа аллелей: *gene12_391* (рисунок 3.2.1, рисунок 3.2.3), ассоциированный в литературе с признаком высокой скрещиваемости пшеницы с рожью; *gene12_342*, связанный с низкой скрещиваемостью, а также новые аллели *gene12_320* и нулевой аллель (*gene12_0*), то есть отсутствие ПЦР-продуктов (подтверждено в пяти повторностях). Аллель *gene12_391* преобладал (90,2%) у генотипов с высокой скрещиваемостью, но также был обнаружен и у большого числа

(46,0%) несовместимых с рожью форм (рисунок 3.2.1). Диагностический фрагмент «низкой скрещиваемости» *gene12_342* был присущ несовместимым с рожью генотипам (54,0%), но присутствовал и у части генотипов (6,6%) с высокой завязываемостью гибридных зерновок при опылении рожью. Новые аллели *gene12_0* и *gene12_320* были уникальными, они обнаружены у растений образца Сибирка Ярцевская (р.2, 3) и линии с высокой скрещиваемостью Л42-ХСР, отобранной из образца к-62782 (Китай), соответственно.

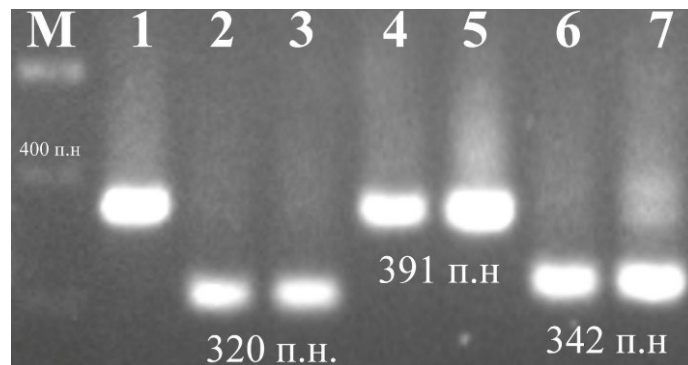


Рисунок 3.2.3 – Разнообразие аллелей в локусе *gene12*, сцепленном с геном *SKr*. Цифрами обозначены растения следующих образцов МП: 1 – к-24961, Akadaruma; 2, 3 – Л42-ХСР (р.1, 2) (выделен из к-62782 из Китая); 4, 5 – к-23806, Punjab Tipe 8a (р.1, 2); 6, 7 – к-59273, Ледовка (р.1, 2). М – маркер молекулярного веса «100 bp+1.5 Kb+3 Kb» (СибЭнзим, Россия). Электрофорез проводился в 2,5% агарозном геле.

Скрининг с привлечением маркера *TGlc2*. У локуса *TGlc2* всего было выявлено шесть аллелей (рисунок 3.2.1). В литературе для него описаны: аллель *TGlc2_291*, ассоциированный с высокой скрещиваемостью с рожью, *TGlc2_279*, соотнесенный с низкой завязываемостью гибридных зерновок, и амплифицирующийся во всех случаях продукт в 270 п.н. (рисунок 3.2.4А). Поскольку этот фрагмент имели все генотипы изученной нами выборки, он был исключен из дальнейшего рассмотрения. У 69,4% генотипов встречался аллель *TGlc2_291*, причем он присутствовал у 90,2% совместимых с рожью и у 46,0% генотипов с низкой скрещиваемостью. Аллель *TGlc2_279*, ассоциированный с низкой завязываемостью, был вторым по распространенности, его распределение в выборке было идентичным с аллелем *cfb341_163* локуса *cfb341* (рисунок 3.2.1).

Три остальных аллеля (*TGlc2_256*, *TGlc2_268* и *TGlc2_284*) описаны нами впервые (Поротников и др., 2022), они были редкими или уникальными (рисунок 3.2.1). Выявлены они у тех же генотипов, которые были с редкими/уникальными аллелями по описанному нами выше локусу *cfb341*: Punjab Tipe 8A и Moro of Sind (р.1) – несут аллель *TGlc2_284*, Moro of Sind (р.2, 3) – аллель *TGlc2_268*, Сибирка Ярцевская (р.2, 3) – аллель *TGlc2_256*.

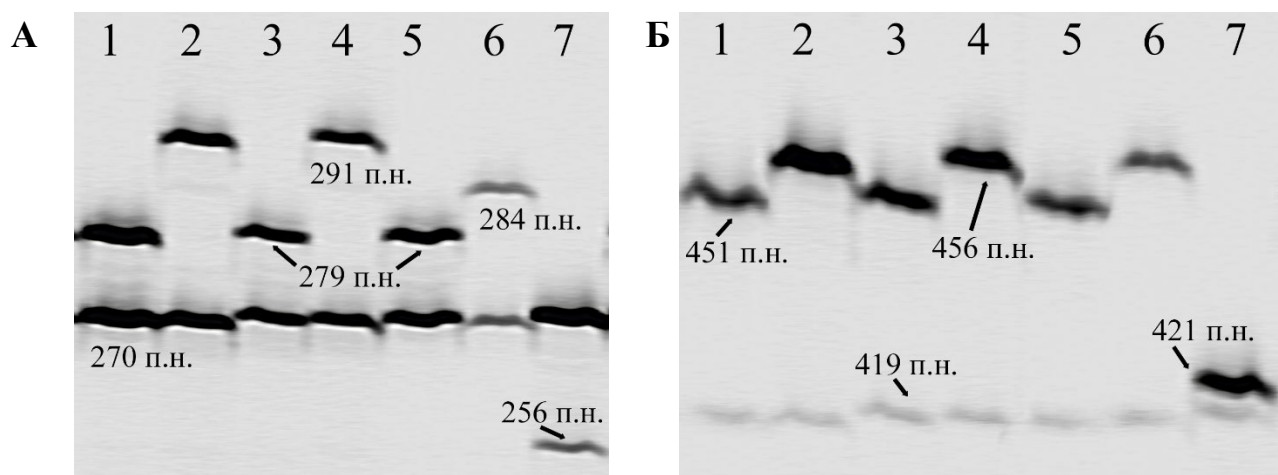


Рисунок 3.2.4 – Разнообразие аллелей в локусах *TGlc2* (А) и *gene13* (Б), сцепленных с геном *SKr*. Цифрами обозначены растения следующих образцов МП: 1 – к-43920 Мироновская 808; 2 – к-64584 Восторг (р.1); 3 – к-38587 Сибирка Ярцевская (р.1); 4 – 61249 Norin 68 (р.1); 5 – к-17167 (р.1); 6 – к-23806 Punjab Tіre 8a (р.1); 7 – к-38587 Сибирка Ярцевская (р.2). Электрофорез проводился в ПААГ на установке LI-COR 4300S (LI-COR, Inc., USA).

Скрининг с привлечением маркера *gene13*. Для локуса *gene13* у 111 генотипов определено четыре типа аллелей (рисунок 3.2.1). Аллель *gene13_419* выявленный у всех изученных генотипов, нами в дальнейшем не учитывался (рисунок 3.2.4Б). В выборке преобладали генотипы (55,9%) с аллелем *gene13_456*, рассматриваемым в литературе (Bouguennec et al., 2018) как диагностический для «высокой скрещиваемости». Доля генотипов с этим аллелем в группе с высокой скрещиваемостью составила 63,9%, а в группе несовместимых с рожью – 46,0%. Описанный авторами диагностический фрагмент «низкой скрещиваемости» – *gene13_451*, был характерен для несовместимых с рожью форм (54,0%), однако довольно часто (34,4%) присутствовал у совместимых МП (рисунок 3.2.1). Новый аллель *gene13_421* был уникальным, он выявлен у растений Сибирка Ярцевская (р.2, 3).

Диагностическая эффективность аллелей локусов *cfb341*, *gene12*, *TGlc2* и *gene13* в идентификации 111 генотипов МП с высокой/низкой скрещиваемостью с рожью. Результаты молекулярного скрининга показали, что диагностические фрагменты «высокой скрещиваемости» локусов *cfb341*, *TGlc2*, *gene12* и в меньшей степени локуса *gene13* действительно преобладали у генотипов, совместимых с рожью. Аналогичную картину наблюдали и для маркерных фрагментов «низкой скрещиваемости» (рисунок 3.2.1). При определении диагностической эффективности аллелей локусов были исключены генотипы, несущие новые аллели, поскольку из-за редкой встречаемости в выборке не представлялось возможным провести по ним сравнение.

Высокая и примерно одинаковая диагностическая эффективность (более 70%) и достоверная ассоциация аллель-признак ($\chi^2 > 3,84$) была характерна для аллелей локусов *cfb341*, *gene12* и *TGlc2*. Наличие аллелей высокой/низкой скрещиваемости с рожью статистически значимо коррелировало с соответствующим проявлением признака, при этом значения

корреляции были средними (таблица 3.2.1). Все три этих локуса тесно сцеплены с геном *SKr*, что подтверждается полученными нами результатами о взаимосвязи определенных их аллелей с признаком скрещиваемости МП с рожью.

Низкой диагностической эффективностью обладали аллели локуса *gene13*, ассоциация аллель-признак для них была недостоверной ($\chi^2 < 3,84$), а корреляция с признаком – слабая ($r < 0,2$). Вероятно, это связано с тем, что *gene13* расположен от гена *SKr* дальше всего (0,4 сМ) (Bouguennec et al., 2018).

Таблица 3.2.1 – Диагностическая эффективность аллелей локусов, сцепленных с геном *SKr*, в выявлении генотипов мягкой пшеницы с высокой/низкой скрещиваемостью с рожью (по результатам анализа первого набора образцов)

Аллель (п.н.)	r_s ($p<0,05$)	Число (процент) генотипов с аллелем, сгруппированных по скрещиваемости с рожью:		Ef	χ^2 (3,84; $df=1$, $p=0,05$)
		высокой	низкой		
<i>cfb341</i> (Alfares et al., 2009; Bouguennec et al., 2018)					
163	-0,51	4 (13,3%)	36 (86,7%)	75,7%	27,2
176	0,50	55 (71,4%)	22 (28,6%)		
<i>gene12</i> (Bouguennec et al., 2018)					
342	-0,53	4 (12,9%)	27 (87,1%)	75,2%	28,2
391	0,48	55 (70,5%)	23(29,5%)		
<i>TGlc2</i> (Bouguennec et al., 2018)					
279	-0,51	4 (13,3%)	26 (86,7%)	75,7%	27,2
291	0,50	55 (71,4%)	22 (28,6%)		
<i>gene13</i> (Bouguennec et al., 2018)					
451	-0,20	21 (43,8%)	27 (56,3%)	60,0%	3,27
456	0,18	39 (62,9%)	23 (37,1%)		

Примечание – темно-серой и светло-серой заливкой обозначены аллели, ассоциированные с высокой или низкой скрещиваемостью с рожью, соответственно; r_s – коэффициент корреляции Спирмена; Ef – диагностическая эффективность; χ^2 – критерий хи-квадрат с поправкой Йейтса.

Анализ гаплотипов. Поскольку факт сцепления маркеров *cfb341*, *TGlc2*, *gene12* и *gene13* с геном *SKr* описан в литературе (Alfares et al., 2009; Bouguennec et al., 2018) и нами показана связь определенных аллелей этих маркерных локусов с признаком высокой/низкой скрещиваемости с рожью, мы посчитали возможным назвать выявленные комбинации аллелей гаплотипами и рассмотреть их встречаемость у 111 генотипов МП.

В изученной выборке всего было выявлено 10 гаплотипов (таблица 3.2.2). Преобладали #1 (52,3%) и #2 (25,2%), у которых все четыре маркерных локуса имели аллели, ассоциированные или с высокой, или с низкой скрещиваемостью с рожью, соответственно. Оба этих гаплотипа встречались у генотипов разных стран. Гаплотип #3 был третьим по распространенности, по локусам *cfb341*, *TGlc2* и *gene12* он нес диагностические фрагменты «высокой скрещиваемости», а по *gene13* – «низкой». Выявлен гаплотип #3 был лишь у 15 генотипов из Китая и одного из Индии. Общая доля образцов с гаплотипами #1–#3 составила 92,8% выборки. Среди остальных

семи гаплотипов один был редким (встречался у двух генотипов), а шесть – уникальными. При этом гаплотипы #4–#6 имели редкое сочетание аллелей, ассоциированных с высокой/низкой скрещиваемостью с рожью, а гаплотипы #7–#9 и #11 содержали новые аллели и были обнаружены у стародавнего российского сорта Сибирка Ярцевская (#8), у генотипов Punjab Tіre 8A (#7) и Moro of Sind (#7 и #9) из Пакистана, а также у линии Л42-ХСР (#11) из Китая. Важно отметить, что гаплотип #10 не приведен в нашей классификации, поскольку в результате уточнения размеров аллельных фрагментов его пришлось исключить.

Таблица 3.2.2 – Гаплотипы, выделенные по аллельному составу локусов *cfb341*, *gene12*, *TGlc2* и *gene13*, у изученных растений (генотипов) мягкой пшеницы с известной скрещиваемостью с рожью (первый набор)

Гаплотип	Аллели локусов (п.н.)				Число (%) с гаплотипом в группах генотипов по скрещиваемости с рожью		Число генотипов (частота гаплотипа во всей выборке)	Представленность гаплотипа в изученных генотипах из разных стран (страны по стандарту ISO 3166-1)
	<i>cfb341</i>	<i>gene12</i>	<i>TGlc2</i>	<i>gene13</i>	высокой	низкой		
#1	176	391	291	456	38 (62,3%)	21 (42,0%)	59 (52,3%)	CHN – 47%; JPN – 17%; RUS – 10%; USA – 7%; CAN, IND – по 3%; ARG, AUS, BGR, BRA, CZE, KAZ, PRT – по 2%
#2	163	342	279	451	3 (4,90%)	25 (50,0%)	28 (25,2%)	RUS – 39%; CHN – 11%; AFG, ARG, AUS, AUT, BLR, CAN, FRA, GBR, JPN, MEX, POL, SWE, SYR, UKR – по 4%
#3	176	391	291	451	15 (24,6%)	1 (2,0%)	16 (14,4%)	CHN – 94%; IND – 6%
#4	176	342	291	451	1 (1,64%)	0	1 (0,9%)	CHN
#5	163	391	279	451	1 (1,64%)	0	1 (0,9%)	CHN
#6	163	342	279	456	0	1 (2,0%)	1 (0,9%)	RUS
#7	168	391	284	456	1 (1,64%)	1 (2,0%)	2 (1,8%)	PAK
#8	145	0	256	421	1 (1,64%)	0	1 (0,9%)	RUS
#9	151	342	268	451	0	1 (2,0%)	1 (0,9%)	PAK
#11	176	320	291	451	1 (1,64%)	0	1 (0,9%)	CHN

Примечание – темно-серой и светло-серой заливкой обозначены аллели, ассоциированные с высокой или низкой скрещиваемостью с рожью, соответственно. Без заливки – редкие/уникальные аллели.

При анализе ассоциации каждого из гаплотипов с высокой/низкой скрещиваемостью с рожью установлено, что с признаком высокой скрещиваемости оказались связаны #1 и #3 — доля совместимых с рожью генотипов, имеющих эти гаплотипы, составила 62,3% и 24,6%, соответственно. Оба гаплотипа содержали диагностические фрагменты высокой скрещиваемости локусов *cfb341*, *TGlc2* и *gene12*, но различались между собой по аллелям локуса *gene13* (таблица 3.2.2). Этот факт подтверждает меньшую диагностическую эффективность аллелей данного локуса по сравнению с *cfb341*, *TGlc2* и *gene12* (Поротников и др., 2022). Гаплотип #2 был

ассоциирован с низкой скрещиваемостью – он почти не встречался у совместимых с рожью генотипов (таблица 3.2.2).

Случаи несовпадения в проявлении уровней высокой/низкой скрещиваемости с рожью и наличия соответствующих им диагностических фрагментов. Сведения о диагностической эффективности аллелей локусов, сцепленных с геном *SKr*, весьма ограничены (Bouguennec et al., 2018). В результате изучения представительной выборки образцов мягкой пшеницы, растения которых различаются по уровню скрещиваемости с рожью посевной, нами доказана диагностическая эффективность аллелей локусов *cfb341* (75,7%), *TGlc2* (75,7%) и *gene12* (75,2%), а также достоверная ассоциация этих аллелей с признаком (таблица 3.2.1). Однако, диагностические фрагменты «высокой скрещиваемости» были выявлены у некоторого числа несовместимых с рожью генотипов (рисунок 3.2.1, таблица 3.2.1, таблица 3.2.2). Наблюдали также и присутствие диагностических фрагментов «низкой скрещиваемости» у совместимых с рожью растений. Нарушение правильной ассоциации аллель-признак можно объяснить несколькими причинами.

1. Прежде всего, использованные маркеры не внутригенные, поэтому возможна рекомбинация между геном-супрессором *SKr* и локусами *cfb341*, *TGlc2*, *gene12* и *gene13*.

Как было показано выше, для аллелей локуса *gene13* диагностическая эффективность была самой низкой (60,0%), а взаимосвязь аллель–признак статистически недостоверной. Меньшая эффективность может быть связана с большей удаленностью *gene13* от *SKr*. Так, при анализе картирующей популяции SSD254–14 (линия MP98×Courtot) показано полное сцепление гена *SKr* с локусами *cfb341*, *TGlc2* и *gene12*, а локус *gene13* был картирован на расстоянии 0,4 сМ от *SKr* (Bouguennec et al., 2018). В нашем исследовании у большого числа форм присутствовал гаплотип #3, а у одного из генотипов выявлен гаплотип #6 (таблица 3.2.2). Эти гаплотипы являлись результатом возможной рекомбинации локусом *gene13* и тремя остальными локусами *cfb341*, *TGlc2* и *gene12* тесно сцепленными с геном *SKr*.

Кроме того, возможна рекомбинация и между локусами *cfb341*, *TGlc2*, *gene12*, которые тесно-сцеплены с *SKr*. В пользу этого предположения свидетельствует обнаружение в выборке уникальных по встречаемости гаплотипов #4 и #5, которые, по-видимому, стали результатом рекомбинации между *gene12*, с одной стороны, и участком, на котором локализованы локусы *cfb341* и *TGlc2*, с другой (таблица 3.2.2).

2. Плохая скрещиваемость с рожью отдельных растений может быть связана с наличием доминантных аллелей других генов, прежде всего гена *Kr1*, который также может вносить существенный вклад в проявление этого признака, как, например было показано у сорта Hobbit Sib, у которого основным по силе геном оказался *Kr1*, а не *SKr*. Именно *Kr1* обуславливал низкую

скрещиваемость Hobbit Sib с рожью (Bertin et al., 2009). Однако, в настоящий момент взаимодействие генов *Kr1* и *SKr* не изучено.

3. Способность к образованию гибридных зерновок может зависеть от условий среды и погодных явлений. Так при проведении скрещиваний с рожью в условиях теплицы в зимнее время, завязываемость может с 80-90% падать до 0-3% (Bertin et al., 2009).

4. В некоторых случаях наличие диагностических фрагментов высокой скрещиваемости у несовместимых с рожью растений МП может быть следствием неудачно проведенных опытов по фенотипизации материала или слишком жесткого подхода к разделению на классы «высокой» и «низкой скрещиваемости». Например, одни исследователи регистрировали случаи высокой скрещиваемости только при образовании хорошо выполненных и всхожих зерновок, другие же учитывали все зерновки, независимо от их жизнеспособности и развитости зародыша и эндосперма (Lein, 1943; Krolow, 1970; Ригин, 1976; Суриков, Киссель, 1980). Поэтому нельзя исключить, что часть образцов, которые по литературным данным были определены как несовместимые с рожью на основании формирования невыполненных зерновок, на самом деле могли нести рецессивные аллели генов *Kr* и *SKr*.

Гетерогенность образцов по локусам, сцепленным с геном *SKr*. Из изученных 105 образцов первого набора гетерогенными оказались шесть, а именно: Moro of Sind (гаплотипы #7 и #9), к-43099 – Red Bobs 222 (#1 и #2), к-69059 – ЛЗ-ХСР (#1 и #3) (выделен из к-42990), Л6-ХСР (#2 и #3) (выделен из к-42445), ЛЗЗ-ХСР (#1 и #3) (выделен из к-29045) и Сибирка Ярцевская (#2 и #9).

Причинами гетерогенности этих образцов могут быть или присутствие нескольких биотипов в составе образца, или наличие гетерозиготных генотипов. Так, гетерозиготное растение обнаружено нами при анализе гетерогенной линии Л6-ХСР. Было выявлено два варианта гаплотипов (таблица 3.2.3): #2 с диагностическими фрагментами «низкой скрещиваемости» (три растения) и #3 с диагностическими фрагментами «высокой скрещиваемости» локусов *cfb341*, *TGlc2* и *gene12* (два растения). Еще у одного растения в локусах *cfb341*, *TGlc2* и *gene12* одновременно были детектированы аллели, ассоциированные и с высокой, и с низкой скрещиваемостью. Очевидно, линия Л6-ХСР произошла от растения, гетерозиготного по локусам, сцепленным с геном *SKr*. По-видимому, расщепление в ней продолжается до настоящего времени. По результатам фенотипической оценки, проведенной в сезоне 2021 г., мы подтвердили высокую (25%) скрещиваемость с рожью растения с гаплотипом #3 и не выявили гибридных зерновок (0%) у растения с гаплотипом #2, то есть диагностические фрагменты локусов *cfb341*, *TGlc2* и *gene12*, действительно, были ассоциированы с разным уровнем скрещиваемости (таблица 3.2.3). Другими словами, линия Л6-ХСР была гетерозиготной, также, по-видимому, и по самому гену *SKr*. Таким образом, для линии Л6-ХСР экспериментально

подтверждена связь диагностических фрагментов с наблюдаемым в полевых условиях уровнем скрещиваемости (Поротников и др., 2022).

Таблица 3.2.3 – Гетерогенность растений линии к-69062 Л6-ХСР

Растение ¹	Скрещиваемость с рожью				Аллельный состав локусов (п.н.), сцепленных с <i>SKr</i> ²				Гаплотип
	По литературе	2021	2022	2023	<i>cfb341</i>	<i>gene12</i>	<i>TGlc2</i>	<i>gene13</i>	
(p.1)	55,4%	0,0%	0,0%	0,0%	163	342	279	451	#2
(p.2)		–	–	–	163	342	279	451	#2
(p.3)		–	–	–	163	342	279	451	#2
(p.4)		25,0%	16,0%	–	176	391	291	451	#3
(p.5)		–	–	–	176	391	291	451	#3
(p.6)		–	–	–	163+176	342+391	279+291	451	#2+#3

Примечания: 1 – Жирным выделены растения, различающиеся по скрещиваемости с рожью и аллелям локусов, сцепленных с геном *SKr*, а также гетерозиготное растение. 2 – Темно-серой и светло-серой заливкой обозначены аллели, ассоциированные с высокой или низкой скрещиваемостью с рожью, соответственно. Без заливки – редкие/уникальные аллели.

Заключение по разделу 3.2.1

С помощью молекулярных маркеров, сцепленных с геном *SKr*, нами была проанализирована выборка из 105 образцов (111 генотипов) МП, различающихся по скрещиваемости с рожью. Аллели локусов *cfb341*, *TGlc2* и *gene12* оказались диагностически эффективными в идентификации МП с высокой/низкой скрещиваемостью. В то же время для локуса *gene13* ассоциация аллелей с определенным уровнем проявления признака оказалась статистически недостоверной. В целом, проведенный молекулярный скрининг мягкой пшеницы коллекции ВИР показал, что с помощью маркеров *cfb341*, *TGlc2* и *gene12* можно ускорить поиск образцов, обладающих высокой скрещиваемостью с рожью, и тем самым уменьшить объем полевых исследований по оценке уровня скрещиваемости.

В изученной выборке всего было выявлено 10 различных комбинаций аллелей (гаплотипов), при этом среди них преобладали (92,8%) три гаплотипа (#1-#3), у которых локусы *cfb341*, *TGlc2*, *gene12* и *gene13* имели все аллели, ассоциированные или с высокой, или с низкой скрещиваемостью с рожью.

Для небольших лабораторий с базовым оснащением может быть рекомендован для работы маркер *gene12*, у которого диагностические фрагменты «высокой» и «низкой скрещиваемости» достоверно различаются в агарозном геле (рисунок 3.2.3).

При анализе растений стародавних образцов из Пакистана, Китая и России (Красноярский Край) были выявлены новые (неописанные в литературе) редкие и уникальные аллели, но из-за небольшого числа найденных генотипов с новыми аллелями не представилось возможным ассоциировать их с высокой или низкой скрещиваемостью с рожью.

3.2.2 Поиск потенциально совместимых с рожью растений среди 108 образцов стародавней мягкой пшеницы из стран Азии

Как было отмечено в разделе 3.2.1 новые аллели локусов *cfb341*, *TGlc2*, *gene12* и *gene13*, сцепленных с *SKr*, присутствовали в генотипах растений образцов из Пакистана, Китая и России (Красноярского края). Установление этого факта, а также знание концепции Н. И. Вавилова о наличии первичного очага разнообразия сортовых форм мягкой пшеницы в горных районах Юго-Западной Азии (Вавилов, 1926) побудили нас увеличить выборку образцов из различных стран Азиатского региона, выявить среди них, потенциально совместимые с рожью и оценить у них аллельное разнообразие по тем же маркерным локусам. Для этого нами был сформирован новый (второй) набор, включивший 108 образцов МП, в том числе из Китая (53 образца), Афганистана (7), Индии (8), Ирана (10), Монголии (10), Пакистана (10) и Турции (10).

Важно отметить, что молекулярный скрининг образцов МП второго набора проводили, анализируя как отдельные растения, так и суммарные bulk-пробы, что позволяло с большей вероятностью обнаруживать генетическую неоднородность растений образцов. Почти все образцы (103 из 108) этого набора были представлены такими пробами (приложение 2). Исключение составили к-5507, к-22261, к-22308, к-23812 и к-32848, у которых анализировали ДНК только отдельных растений. Были также образцы, представленные лишь bulk-пробами: к-14497, к-26085, к-28675, к-28996 и к-29139. Всего было охарактеризовано 118 растений и 103 bulk-пробы.

Для данной выборки разделение ПЦР-продуктов проводили исключительно путем капиллярного электрофореза на установке Нанофор 05. Кроме того, для электрофореза нам удалось мультиплексировать ПЦР-продукты, полученные при использовании всех четырех пар праймеров *cfb341*, *TGlc2*, *gene12* и *gene13* (рисунок 3.2.5). Таким образом сроки и трудоемкость анализа были существенно сокращены.

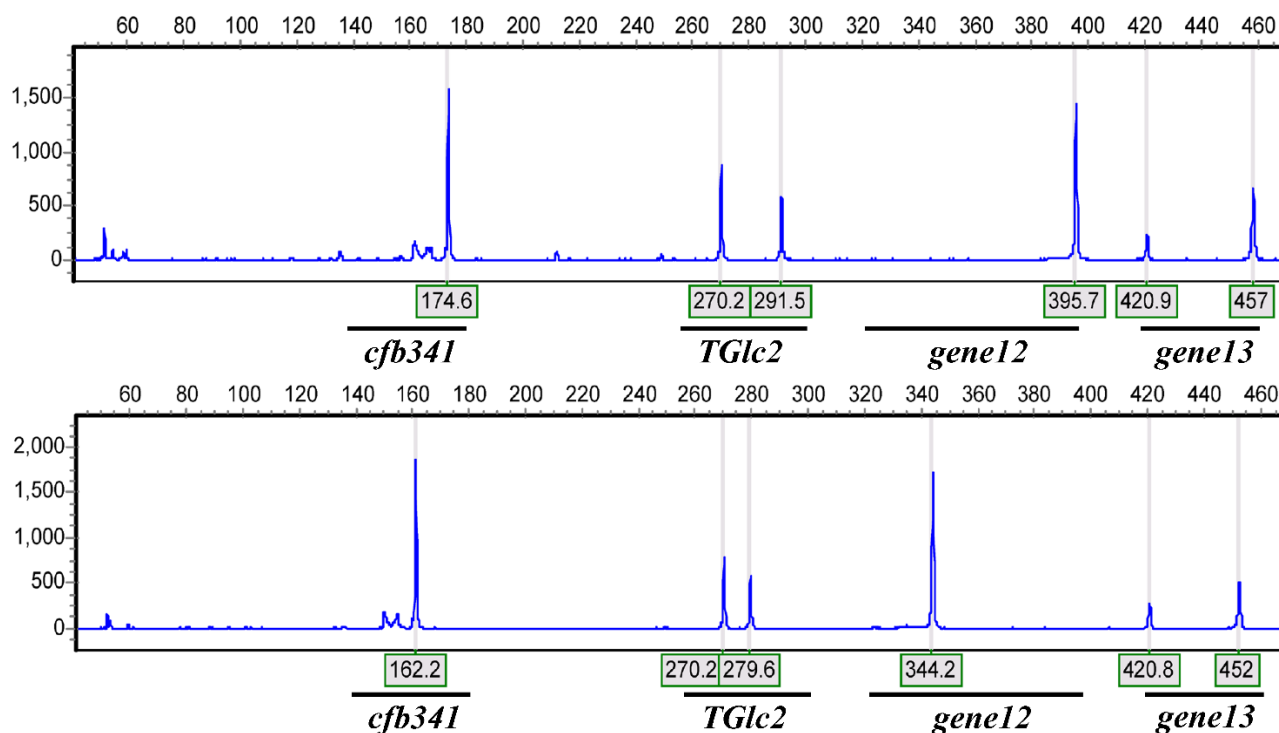


Рисунок 3.2.5 – Электрофореграммы мультиплексированного анализа флуоресцентно-меченных (канал FAM) ПЦР-продуктов, полученных с использованием специфичных праймеров локусов *cfb341*, *TGlc2*, *gene12* и *gene13*. Цифрами приведены относительные размеры фрагментов.

Разнообразие образцов мягкой пшеницы из стран Азии по маркерным локусам *cfb341*, *gene12*, *TGlc2* и *gene13*, сцепленным с геном *SKr*. В результате молекулярного скрининга установлено, что девять образцов из 108 изученных были гетерогенными по локусам *cfb341*, *TGlc2*, *gene12* и *gene13*. У данных образцов bulk-пробы несли сочетания различных аллелей по одному или нескольким локусам. При описании результатов скрининга для таких образцов учитывали все выявленное у них разнообразие гаплотипов (таблица 3.2.4). Всего в скрининге участвовало 117 генотипов.

Суммарно у стародавней МП из различных стран Азии (второй набор) выявлено 19 различных аллелей локусов *cfb341*, *TGlc2*, *gene12* и *gene13*. Из них 17 были нами ранее определены при оценке первого набора из 105 образцов МП (см. раздел 3.2.1), а два аллеля *cfb341*-181 и *TGlc2*-300 оказались новыми. Встречаемость выявленных аллелей в исследованной выборке приведена в таблице 3.2.5. Чаще других у МП выявляли аллели, сопряженные с высокой или низкой скрещиваемостью пшеницы с рожью и отнесенные к категории диагностических. Так, общая встречаемость диагностических аллелей *cfb341*_176, *TGlc2*_291, *gene12*_391 и *gene13*_456, ассоциированных с «высокой скрещиваемостью», варьировала от 55,6% (*gene13*_456) до 70,9% (*gene12*_391), т.е. они преобладали у стародавней МП. На втором месте по распространенности были аллели «низкой скрещиваемости» *cfb341*_163, *TGlc2*_279, *gene12*_342 и *gene13*_451, их частота составляла 23,9-41,9%. Следует отметить, что ассоциированные с высокой/низкой

скрещиваемостью аллели были выявлены нами у генотипов образцов МП из всех семи стран Азии (таблица 3.2.5), однако их встречаемость по странам варьировала. Так, аллели «высокой скрещиваемости» по всем четырем локусам преобладали у МП из Китая (62,5–94,6%), а также из Афганистана (57,1–71,4%) и Монголии (53,8–61,5%). Аллели, ассоциированные с низкой скрещиваемостью, преобладали у изученных генотипов из Ирана и Турции (таблица 3.2.5).

Таблица 3.2.4 – Гетерогенные образцы, выявленные по результатам скрининга 108 стародавних образцов мягкой пшеницы (второй набор) из различных стран Азии

ВИР, кат. №	Изученные ДНК-пробы	Страна происхождения (по ISO 3166-1)	Аллельный состав (п.н.) локусов, сцепленных с <i>SKr</i>				Гаплотип
			<i>cfb341</i>	<i>TGlc2</i>	<i>gene12</i>	<i>gene13</i>	
к-7934	p.1	MNG	176	291	391	456	#1
	bulk		163+176	279+291	342+391	451+456	#1 и #2
к-7967	p.1	MNG	135	256	0	421	#8
	bulk		135+176	256+291	391	421+456	#1 и #8
к-7975	p.1	MNG	176	291	391	456	#1
	bulk		163+176	279+291	342+391	451+456	#1 и #2
к-14371	p.1	IRN	163	279	342	451	#2
	bulk		163+176	279+291	342+391	451+456	#1 и #2
к-14562	p.1	TUR	163	279	342	451	#2
	bulk		163+176	279+291	342+391	451+456	#1 и #2
к-16072	p.1	TUR	163	279	342	451	#2
	bulk		163+176	279+291	342+391	451+456	#2 и #3
к-28378	p.1	CHN	176	291	391	456	#1
	bulk		176	291	391	451+456	#1 и #3
к-28675	bulk	CHN	163+176	279+291	342+391	451+456	#1 и #2
к-28996	bulk	CHN	163+176	279+291	342+391	451+456	#2 и #3

Примечание – темно-серой и светло-серой заливкой обозначены аллели, ассоциированные с высокой или низкой скрещиваемостью с рожью, соответственно.

Таблица 3.2.5 – Встречаемость (%) аллелей (п.н.) локусов *cfb341*, *TGlc2*, *gene12* и *gene13* в генотипах стародавней МП из различных стран Азии, а также во всей выборке

Страны	<i>cfb341</i>						<i>gene12</i>				<i>TGlc2</i>						<i>gene13</i>		
	135	151	163	168	176	181	0	320	342	391	256	268	279	284	291	300	421	451	456
AFG			28,6		71,4			14,3	28,6	57,1			28,6		71,4			42,9	57,1
CHN			5,4		94,6			1,8	5,4	92,9			5,4		94,6			37,5	62,5
IND			25,0	50,0	25,0				25,0	75,0			25,0	50,0	25,0			25,0	75,0
IRN			54,5		45,5				54,5	45,5			54,5		45,5			54,5	45,5
MNG	23,1		15,4		53,8	7,7	23,1		15,4	61,5	23,1		15,4		53,8	7,7	23,1	15,4	61,5
PAK		10,0	30,0	50,0	10,0				40,0	60,0		10,0	30,0	50,0	10,0			40,0	60,0
TUR			83,3		16,7				83,3	16,7			83,3		16,7			91,7	8,3
МП (всего)	2,6	0,9	23,9	7,7	64,1	0,9	2,6	1,7	24,8	70,9	2,6	0,9	23,9	7,7	64,1	0,9	2,6	41,9	55,6

Примечание – темно-серой и светло-серой заливкой обозначены аллели, ассоциированные с высокой или низкой скрещиваемостью с рожью, соответственно; жирным приведены по каждому локусу проценты встречаемости аллелей, преобладающие у генотипов определенного происхождения.

Остальные аллели были либо редкими, либо уникальными. Из них *cfb341_181* и *TGlc2_300* присутствовали у растений образца к-8034 из Монголии. Аллель *gene12_320*, выявленный нами ранее у линии Л42-ХСР из Китая (см. раздел 3.2.1), в этом наборе был обнаружен у растений образца к-28640 из этой же страны, а также у к-12352 из Афганистана (таблица 3.2.6). Аллели *cfb341_168* и *TGlc2_284* были найдены у растений образцов из Пакистана и Индии, а у образцов из других регионов они не обнаружены. Аналогично, аллели *cfb341_151* и *TGlc2_268*, идентифицированные у части растений сорта Moro of Sind из Пакистана (см. раздел 3.2.1) были обнаружены у еще одного образца из этой страны – к-23797 Punjab Tipe 19. Наконец, аллели *cfb341_135*, *TGlc2_256*, *gene12_0*, *gene13_421*, найденные ранее у некоторых растений сорта Сибирка Ярцевская (Россия, Красноярский край), встречались у образцов МП из Монголии, что может свидетельствовать об их общем происхождении.

Разнообразие гаплотипов у стародавней МП из различных стран Азии. Как и при анализе структуры предыдущей выборки растений, комбинацию выявленных аллелей всех четырех изученных локусов определяли как гаплотип. Гетерогенные образцы имели два и более гаплотипов. Для обозначения их использовали ранее разработанную нумерацию (см. раздел 3.2.1). Всего на основе аллельного состава локусов *cfb341*, *TGlc2*, *gene12* и *gene13* у 117 генотипов стародавней МП (второго набора) выделено восемь гаплотипов, один из которых новый (таблица 3.2.6).

Как и при анализе рассмотренного в разделе 3.2.1 первого набора из 105 образцов (111 генотипов) МП, различающихся по скрещиваемости с рожью (см. раздел 3.2.1), для стародавней МП из стран Азии оказались характерными **гаплотипы #1, #2 и #3**, несущие аллели «высокой» или «низкой скрещиваемости». Встречаемость этих гаплотипов в изученной выборке составила 47,0%, 23,9% и 15,4%, соответственно. Остальные гаплотипы #7–#9, #11, #12 включали либо редкие, либо впервые обнаруженные аллели (таблица 3.2.6).

Гаплотип #7 с редко встречающимися аллелями *cfb341_168* и *TGlc2_284* был ранее идентифицирован у растений образца к-23806 Punjab Tipe 8A из Пакистана, характеризовавшегося высокой скрещиваемостью с рожью. В изученной выборке стародавней МП этот гаплотип имели девять образцов из Пакистана и Индии.

Гаплотип #8, также с редко встречающимися аллелями по всем четырем маркерным локусам, был ранее описан у совместимого с рожью местного сорта Сибирка Ярцевская (к-38587) из Красноярского края России. Среди стародавней МП такой гаплотип имели к-7909, к-7911 и к-7967. Все они происходят из Монголии, то есть региона, пограничного с Красноярским краем Сибири.

Гаплотип #9, содержащий редкие аллели *cfb341_151* и *TGlc2_268*, был прежде описан для двух растений сорта Moro of Sind из Пакистана (см. раздел 3.2.2). В изученной выборке стародавней МП он был обнаружен у растений образца к-23797 из этой же страны.

Гаплотип #11 с редким аллелем *gene12_320* был ранее идентифицирован у линии Л42-ХСР, выделенной по признаку «высокой скрещиваемости с рожью» из китайского образца. В результате скрининга второго набора с таким гаплотипом было найдено еще два образца из Китая и Афганистана.

Впервые описанный в данном исследовании **гаплотип #12** содержал новые аллели *cfb341_181* и *TGlc2_300* и был выявлен у растений стародавней пшеницы к-8034 из Монголии. Ранее описанные нами гаплотипы #4–#6 с редкими сочетаниями диагностических фрагментов «высокой/низкой скрещиваемости с рожью» у стародавней МП из Азии найдены не были (таблица 3.2.6). Носителями гаплотипов #4 и #5 были растения китайских образцов, а #6 – растения современного российского сорта к-65758 Немчиновская 24 (приложение 1).

Таблица 3.2.6 – Гаплотипы, выделенные по аллельному составу локусов *cfb341*, *gene12*, *TGlc2* и *gene13* у изученных 117 генотипов стародавней мягкой пшеницы из Азии (второй набор)

Гаплотип	Аллели локусов (п.н.)				Частота гаплотипа в выборке	Представленность гаплотипа в изученных генотипах, разбитых по их скрещиваемости с рожью
	<i>cfb341</i>	<i>gene12</i>	<i>TGlc2</i>	<i>gene13</i>		
#1	176	391	291	456	47,0%	Высокая (35,7%): $N = 1$
						к-7997
						Низкая (0%): $N = 8$
						к-5589, к-5601, к-7926, к-12382, к-12480, к-21776, к-23801, к-32848
						Неизвестная ($N = 46$)
						к-7934, к-7967, к-7972, к-7973, к-7975, к-12366, к-12412, к-13071, к-14371, к-14562, к-26085, к-28378, к-28440, к-28610, к-28620, к-28634, к-28647, к-28675, к-28702, к-28751, к-28766, к-28767, к-28775, к-28789, к-28825, к-28845, к-28852, к-28857, к-28912, к-28948, к-28996, к-29063, к-29132, к-29134, к-29139, к-32146, к-32221, к-32849, к-41562, к-41836, к-41842, к-42469, к-42976, к-43057, к-43975, к-44099
#2	163	342	279	451	23,9%	Низкая (0-10%): $N = 6$
						к-5507, к-5518, к-12367, к-12422, к-21195, к-22258
						Неизвестная: $N = 22$
						к-7934, к-7975, к-10678, к-13072, к-13504, к-14351, к-14371, к-14393, к-14397, к-14421, к-14439, к-14443, к-14497, к-14513, к-14562, к-16072, к-21011, к-23812, к-28675, к-28774, к-38605, к-43967
#3	176	391	291	451	15,4%	Неизвестная: $N = 18$
						к-16072, к-28378, к-28383, к-28407, м28703, м28771, к-28784, к-28846, к-28976, к-28979, к-28996, к-41844, к-42588, к-42961, к-42967, к-43990, к-44001, к-44127

Продолжение таблицы 3.2.6

Гаплотип	Аллели локусов (П.Н.)				Частота гаплотипа в выборке	Представленность гаплотипа в изученных генотипах, разбитых по их скрещиваемости с рожью
	<i>cfb341</i>	<i>gene12</i>	<i>TGlc2</i>	<i>gene13</i>		
#7	168	391	284	456	7,7%	Высокая (30,0-51,3%): $N = 3$
						к-14958, к-14960, к-23808
						Низкая (0%): $N = 5$
						к-5158, к-5504, к-5545, к-22308; к-22261
						Не изучали: $N = 1$
#8	145	0	256	421	2,6%	к-23811
						Низкая (0%): $N = 2$
						к-7909, к-7911
						Не изучали: $N = 1$
#9	151	342	268	451	уникальный	к-7967
						Низкая (0%): $N = 1$
#11	176	320	291	451	1,7%	к-23797
						Высокая (35,7%): $N = 1$
						к-12352
						Неизвестная: $N = 1$
#12	181	391	300	456	уникальный	к-28640
						Высокая (59,4%): $N = 1$
						к-8034

Примечание – темно-серой и светло-серой заливкой обозначены аллели, ассоциированные с высокой или низкой скрещиваемостью с рожью, соответственно, без заливки – редкие/уникальные аллели; жирным обозначены генотипы гетерогенных образцов.

Географическое распределение гаплотипов МП. На рисунке 3.2.6 представлена карта-схема с распределением гаплотипов, выявленных у 117 генотипов (108 образцов) стародавней МП, по странам происхождения. Показано, что наиболее широкое распространение имели гаплотипы #1 и #2, которые присутствовали в разных пропорциях у растений образцов из всех стран Азии. Гаплотип #2, ассоциированный с низкой скрещиваемостью с рожью, преобладал в Турции, самой западной из изученных стран, и был распространен в Иране. По мере продвижения на восток его доля уменьшалась и достигла своего минимума в Китае. Напротив, относительная доля гаплотипа #1, ассоциированного с высокой скрещиваемостью, возрастала. Другими словами, увеличивалась встречаемость потенциально способных скрещиваться с рожью генотипов, а процент несовместимых с ней (гаплотип #2) – уменьшался. Примечательно, что гаплотип #3, тоже соотнесенный нами ранее с высокой скрещиваемостью с рожью, был распространен у стародавней пшеницы Китая, но в других странах, кроме Турции, обнаружен не был.

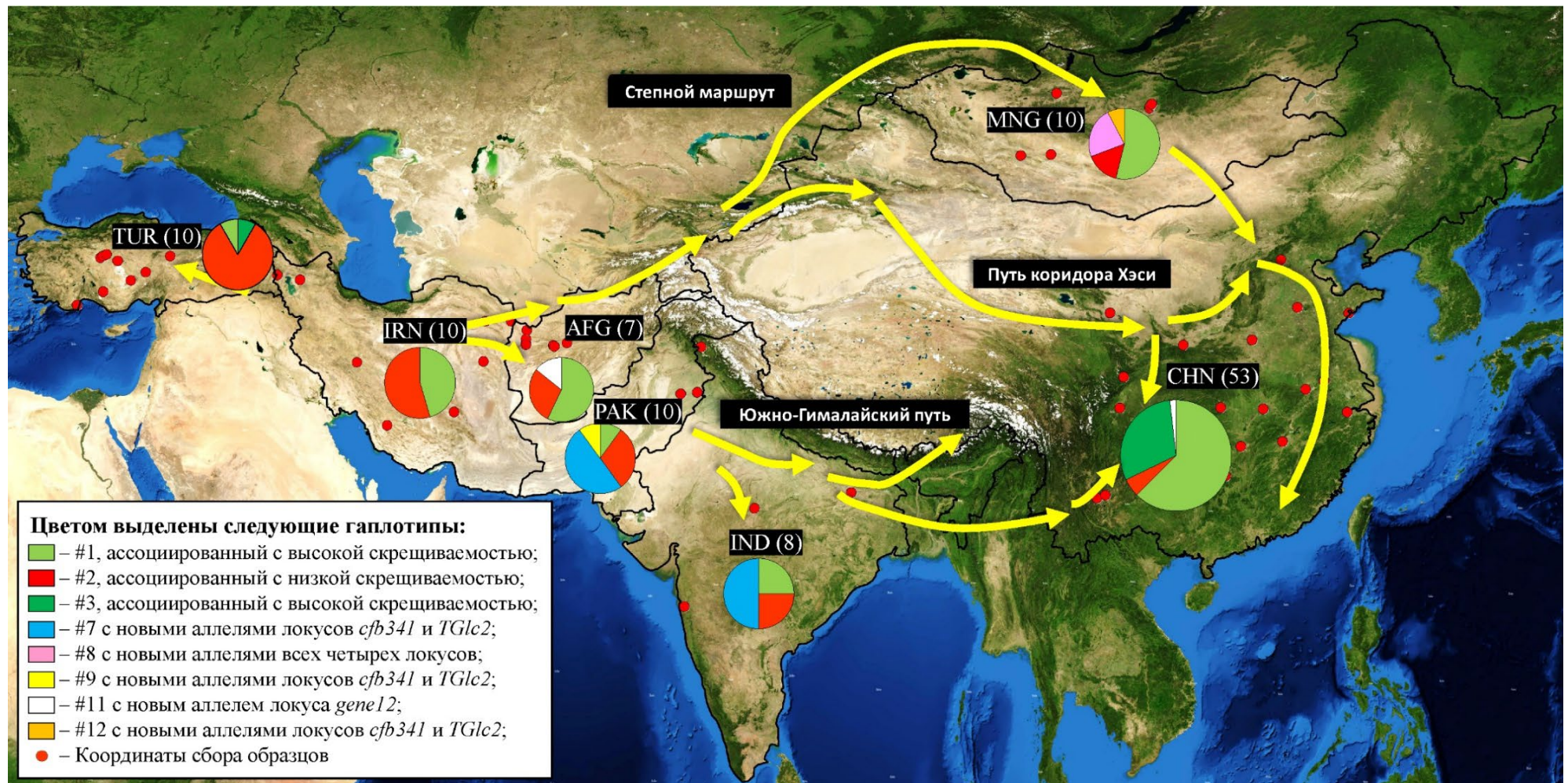


Рисунок 3.2.6 – Распределение гаплотипов, выявленных у 117 генотипов (108 образцов) стародавней мягкой пшеницы по странам Азии (Поротников и др., 2025). Маршруты распространения мягкой пшеницы приведены согласно X. Zhao и соавторам (2023).

Известно, что механизм прогамной несовместимости (замедление или ингибирование роста пыльцевых трубок) выработался как ответ на совместное произрастание пшеницы и ржи на территории Юго-Западной Азии. В таких условиях пыльца ржи, как перекрестно-опыляемой культуры, может попадать на рыльца пестиков пшеницы, в результате чего возможны случаи образования спонтанных гибридных зерновок F_1 , которые могут давать жизнеспособные, но стерильные растения, засоряющие посевы пшеницы. Поэтому можно предположить, что под действием естественного и искусственного отборов (Riley, Chapman, 1967; Ригин, 1976) доля генотипов мягкой пшеницы, совместимых с рожью, постепенно уменьшалась. В связи с этим неудивительно, что в Турции и Иране преобладают генотипы с гаплотипом #2, ассоциированным с низкой скрещиваемостью с рожью (рисунок 3.2.6).

В Восточную Азию мягкая пшеница попала 5000–7000 лет тому назад (Zhao et al., 2023). Однако, в отличие от Европы и стран Центральной и Юго-Западной Азии, в Центральном и Восточном Китае рожь длительное время не произрастала (Вавилов, 1926). Соответственно, механизм прогамной несовместимости пшеницы и ржи не был востребован. Поэтому в Китае преобладает стародавняя МП с гаплотипами #1 и #3, соотнесенными с высокой скрещиваемостью с рожью (рисунок 3.2.6).

Гаплотипы, содержащие новые/редкие аллели, по географической приуроченности были объединены нами в группы. Оказалось, что они могут быть связаны с недавно установленными тремя основными путями распространения мягкой пшеницы в Восточную Азию, которое происходило с участием человека примерно 6 тысяч лет назад (Zhao et al., 2023). Реконструкция данных маршрутов была проведена на основе анализа палеоботанических данных (Betts et al., 2014; Stevens et al., 2016; Zhou et al., 2020), а затем продолжена и обобщена путем анализа полиморфных последовательностей генома у сортов стародавней МП из стран Азии (Zhao et al., 2023).). Первая выделенная нами группа объединила стародавнюю МП из Пакистана и Индии с редкими аллельными фрагментами *cfb341_151*, *cfb341_168* и *TGlc2_284*, которые встречались лишь в составе гаплотипов #7 и #9 у образцов пшеницы из этих стран. Известно, что через Пакистан и Индию проходил так называемый Южно-Гималайский путь распространения МП (Stevens et al., 2016). Вторую группу составили растения образца к-12352 с #11. Возможно, семена растений пшеницы с этим гаплотипом могли быть перенесены в Китай по маршруту коридора Хэси, так называемому «прото-Шелковому пути» (Betts et al., 2014; Stevens et al., 2016). Наконец, семена растений стародавней МП из Монголии с гаплотипами #8 и #12, имеющими редкие аллели *cfb341_135*, *cfb341_181*, *TGlc2_256*, *TGlc2_300*, *gene12_0* и *gene13_421*, не встречающиеся в других изученных регионах, могли быть занесены в Монголию и другие страны Восточной Азии так называемым Степным маршрутом распространения МП (Zhou et al., 2020; Zhao et al., 2023). Факт наличия в Афганистане, Пакистане, Китае, Индии и Монголии генотипов

стародавней МП с разными редкими аллелями изученных маркерных локусов свидетельствует о произошедших мутациях в последовательностях этих локусов в процессе эволюции гексаплоидной пшеницы, а также, возможно, их случайном сохранении под действием естественного и/или проводимым человеком искусственного отбора. Адаптация возделываемых растений МП к характерным климатическим условиям названных стран также могла влиять на преобразование аллельного состава этих локусов.

Ассоциация редких/новых аллелей локусов *cfb341*, *TGlc2*, *gene12* и *gene13* стародавней МП из Азии с высокой/низкой скрещиваемостью с рожью. С целью дальнейшей проверки диагностической эффективности аллелей локусов *cfb341*, *TGlc2*, *gene12* и *gene13* в выявлении генотипов МП с высокой/низкой скрещиваемостью с рожью, мы фенотипировали растения девяти образцов МП с гаплотипом #1 (таблица 3.2.6, рисунок 3.2.7). Из них лишь у растений образца к-7997 из Монголии наблюдали высокую (35,7%) завязываемость гибридных зерновок. Изученные растения остальных образцов происхождением из Афганистана (2 образца), Ирана (2), Пакистана (1), Индии (2) и Монголии (1) имели низкую скрещиваемость с рожью. Возможно, это связано с присутствием у них доминантных аллелей других генов, в частности *Kr1-Kr4* (Tixier et al., 1998; Bertin et al., 2009). Нельзя также исключить влияние погодных условий на способность МП завязывать гибридные зерновки (Bertin et al., 2009), что, несомненно, нужно учитывать при рассмотрении результатов скрещивания пшеницы с рожью в условиях Ленинградской области.

Из изученных растений шести образцов с диагностическими аллелями «низкой скрещиваемости» (гаплотип #2) все оказались нескрещивающимися с рожью (рисунок 3.2.7).

Оценка скрещиваемости с рожью растений 13 образцов (таблица 3.1.2), несущих новые/редкие аллели локусов и имеющих гаплотипы #7-#9 и #11-#12, показала, что у пяти из них (к-8034, к-12352, к-14958, к-14960, к-23808) была высокая завязываемость гибридных зерновок (от 30,0% до 59,4%). Это были образцы стародавней МП из Афганистана, Монголии и Пакистана (рисунок 3.2.7). Растения остальных семи образцов гибридных зерновок не завязали.

Таким образом, выделено шесть образцов стародавней МП, растения которых показали высокую скрещиваемость с рожью: из Афганистана (к-12352), Монголии (к-7997 и к-8034) и Пакистана (к-14958, к-14960, к-23808). Растения данных образцов охарактеризованы по аллельному составу локусов *cfb341*, *TGlc2*, *gene12* и *gene13*, тесно сцепленных с геном *SKr*. С новыми аллелями локусов были образцы: к-8034, к-12352, к-14958, к-14960 и к-23808.

В настоящий момент мы не можем достоверно ассоциировать с высокой/низкой скрещиваемостью новые аллели локусов *cfb341*, *TGlc2*, *gene12* и *gene13*, выявленные в результате скрининга первого и второго наборов МП. Это связано с редкостью этих аллелей и недостаточным числом образцов МП, содержащих их. Так, с гаплотипом #7 (новые аллели

cfb341_168 и *TGlc2_284*) суммарно было фенотипировано восемь образцов: пять оказалось с низкой и три с высокой завязываемостью гибридных зерновок. С гаплотипом #8 (*cfb341_135*, *TGlc2_256*, *gene12_0*, *gene13_421*) изучено три образца: один был с высокой, два с низкой скрещиваемостью с рожью. С гаплотипом #9 (*cfb341_151*, *TGlc2_268*) изучено всего два образца, все были с низкой завязываемостью. Отсюда можно сделать предварительный вывод, что ни один из выявленных нами новых аллелей, относящихся к гаплотипам #7-9, не может встречаться исключительно у МП с высокой или низкой скрещиваемостью с рожью.

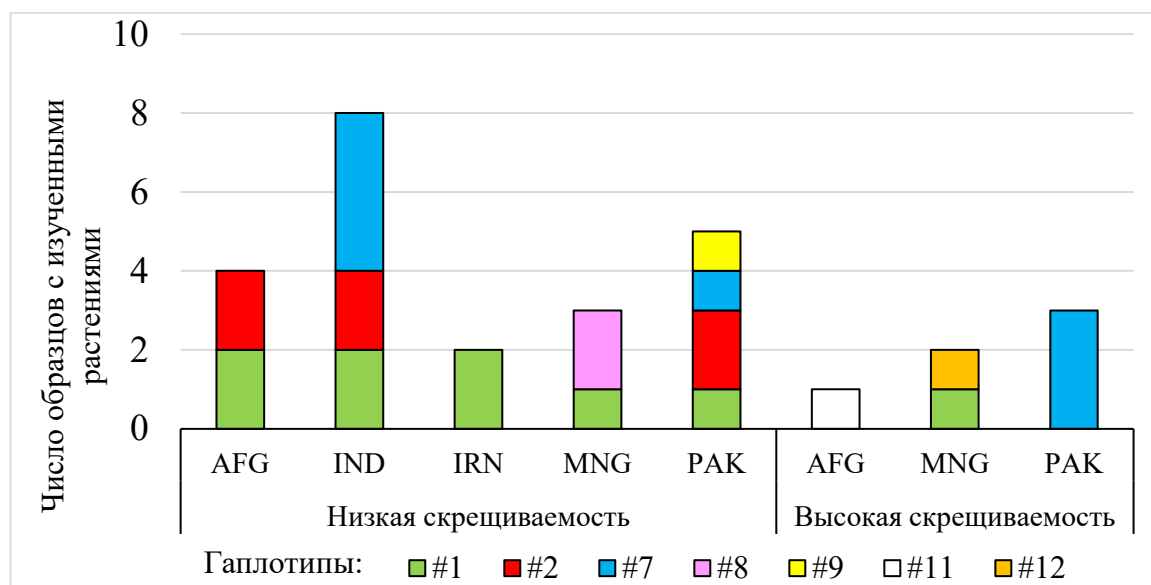


Рисунок 3.2.7 – Встречаемость гаплотипов у образцов стародавней мягкой пшеницы из Азии, различающихся по скрещиваемости с рожью

Заключение по разделу 3.2.2

С помощью молекулярных маркеров *cfb341*, *TGlc2*, *gene12* и *gene13*, сцепленных с геном *SKr*, изучено 108 образцов (117 генотипов) стародавней МП из различных стран Азии. Выявлено восемь гаплотипов, из них пять с редкими/новыми аллелями. Наиболее высокое число различающихся по размеру аллельных фрагментов ДНК-маркеров обнаружено у образцов МП из Монголии, Пакистана и Индии. Более однородными по аллельному составу маркерных локусов были генотипы стародавней МП из Турции и Ирана. Полученные данные согласуются с выводом Н. И. Вавилова о нахождении первичного центра формообразования МП в горных районах Афганистана, Пакистана и Северо-Западной Индии.

Образцы с гаплотипами, содержащими новые аллели, по их географической приуроченности были объединены в группы, которые соответствовали трем основным путям распространения МП из Западной в Восточную Азию: Южно-Гималайский путь, проходивший через Индию и Пакистан; маршрут коридора Хэси, идущий через Афганистан; степной маршрут,

включающий на своем пути Монголию. Для каждой группы характерны специфические аллели, не встречающиеся в генотипах образцов других групп.

Полученные в этом исследовании результаты, с одной стороны, подтвердили литературные данные, что стародавние сорта МП разных провинций Китая характеризуются высокой скрещиваемостью с рожью, с другой стороны, они указали на возможность расширения географического круга поиска такой МП в Азии. Образцы с высокой скрещиваемостью с рожью, прежде всего, следует искать среди пакистанских, монгольских и афганских образцов стародавней МП. Для определения статистически значимой взаимосвязи между найденными новыми аллелями маркерных локусов, сцепленных с геном *SKr*, и признаком скрещиваемости с рожью необходимо существенно увеличить объемы выборок образцов из различных стран Азии и продолжить их фенотипирование по скрещиваемости с рожью.

Выделенные хорошо скрещивающиеся с рожью растения (генотипы) МП могут быть использованы в качестве новых источников этого признака как при проведении фундаментальных исследований, так и в селекции при создании новых пшенично-ржаных гибридов. Переносу генетического материала, связанного с этим признаком, могут способствовать апробированные ДНК-маркеры гена *SKr*.

3.2.3 Характеристика растений 27 образцов синтетической гексаплоидной пшеницы

Разнообразие СГП по локусам, сцепленным с геном *SKr*. В скрининге участвовало 27 образцов СГП (третий набор), представленных 86 растениями, по 2-7 растений на образец. Из них только образцы к-65508 и к-65517 были гетерогенными по аллельному составу сцепленных с геном *SKr* локусов *cfb341*, *TGlc2*, *gene12* и *gene13*. У данных образцов при проверке растений было выявлено по два варианта аллельных комбинаций (гаплотипов). Таким образом, в скрининге участвовало 29 генотипов СГП. По скрещиваемости с рожью 13 из них было с высокой, а 16 – с низкой завязываемостью зерновок.

В отличие от МП, генотипы СГП характеризовались меньшим полиморфизмом по четырем локусам, сцепленным с геном *SKr* (таблица 3.2.7) – выявлено девять аллелей, восемь из которых описаны в литературе (Bouguennec et al., 2018) как диагностические «высокой» (*cfb341_176*, *gene12_391*, *TGlc2_291* и *gene13_456*) и «низкой скрещиваемости с рожью» (*cfb341_169*, *gene12_342*, *TGlc2_279* и *gene13_451*). Еще один аллель – *cfb341_157* был уникальным, он выявлен только у нескольких растений гетерогенного образца к-65508, при этом ранее у МП он обнаружен не был. Стоит отметить, что амплификация фрагмента *cfb341_157* происходила совместно с фрагментом *cfb341_176*, ассоциированным с высокой скрещиваемостью.

Разнообразие гаплотипов у СГП. Всего было идентифицировано четыре гаплотипа. Как и в случае изученных выборок МП – у СГП преобладал гаплотип #1 с диагностическими фрагментами «высокой скрещиваемости» (таблица 3.2.7). Вторым по встречаемости был #2 с диагностическими фрагментами «низкой скрещиваемости». Суммарно эти гаплотипы обнаружены у 93,1% генотипов СГП. Гаплотипы #6 и #13 у СГП были уникальными, они обнаружены у генотипов образцов к-65483 и к-65508, соответственно. Гаплотип #13 с уникальным аллелем *cfb341_157*, единственным среди новых/редких аллелей у образцов СГП, описан нами впервые. В целом, генотипы СГП оказались менее разнообразными по локусам, сцепленным с геном *SKr*, чем МП.

Таблица 3.2.7 – Гаплотипы, выделенные по аллельному составу локусов *cfb341*, *gene12*, *TGlc2* и *gene13* у изученных генотипов СГП (третий набор)

Гаплотип	Аллели локусов (п.н.)				Частота гаплотипа в выборке (%)	Представленность гаплотипа у образцов с разной скрещиваемостью с рожью
	<i>cfb341</i>	<i>gene12</i>	<i>TGlc2</i>	<i>gene13</i>		
#1	176	391	291	456	72,4	Высокая (25,0–70,0 %): <i>N</i> = 10
						к-65484; к-65490; к-65492; к-65496; к-65497; к-65506; к-65508 ; к-65514; к-65516; к-65518
						Низкая (0–15 %): <i>N</i> = 10
						к-65485; к-65486; к-65487; к-65494; к-65495; к-65500; к-65501; к-65507; к-65509; к-65517
#2	163	342	279	451	20,7	Высокая (35,0 %): <i>N</i> = 1
						к-65504
						Низкая (0,0-15,0 %): <i>N</i> = 5
						к-65502; к-65503; к-65505; к-65515; к-65517
#6	163	342	279	456	уникальный	Высокая (55,0 %): <i>N</i> = 1
						к-65483
#13	157+176	391	291	456	уникальный	Высокая (52,0%): <i>N</i> = 1
						к-65508

Примечание – темно-серой и светло-серой заливкой обозначены аллели, ассоциированные с высокой или низкой скрещиваемостью с рожью, соответственно; жирным выделены образцы, гетерогенные по аллельному составу изученных локусов.

Диагностическая эффективность аллелей локусов *cfb341*, *gene12*, *TGlc2* и *gene13* в идентификации генотипов СГП с высокой/низкой скрещиваемостью с рожью. Из 29 генотипов СГП по скрещиваемости с рожью 14 были с высокой (25,0-71,0%), а 15 – с низкой (0,0-15,0%).

Показано, что диагностическая эффективность аллелей локусов *cfb341*, *TGlc2* и *gene12* в случае СГП была одинаковой и составила 55,2% (таблица 3.2.8), что существенно ниже, чем в случае МП (таблица 3.2.1). Для аллелей локуса *gene13* диагностическая эффективность составила

58,6%. Во всех случаях ассоциация аллель-признак была недостоверной ($\chi^2 < 3,84$), а корреляция аллелей с признаком – низкой ($r_s < 0,3$).

У СГП выявлено минимум пять *QTLs*, ответственных за скрещиваемость с рожью (Zhang et al., 2011). Наибольший вклад в признак вносят *QTLs* в хромосомах 1А и 5В. Обнаружены также *QTLs* и в других хромосомах (2D, 4В, 6А, 7В). По-видимому, контроль скрещиваемости СГП с рожью осуществляется другими, чем у МП, локусами, и участие гена *SKr* может быть не столь решающим, как в случае с МП.

Таблица 3.2.8 – Диагностическая эффективность аллелей локусов, ассоциированных с геном *SKr*, в выявлении 29 генотипов СГП с высокой/низкой скрещиваемостью с рожью (третий набор)

Аллель (п.н.)	r_s ($p<0,05$)	Число (процент) генотипов с аллелем, сгруппированных по скрещиваемости с рожью:		Ef	χ^2 (3,84; $df=1$, $p=0,05$)
		Высокой	Низкой		
<i>cfb341</i> (Alfares et al., 2009; Bouguennec et al., 2018)					
163	$r_s = -0,184$	2 (28,6%)	5 (71,4%)	55,2%	0,31
176	$r_s = 0,184$	11 (50,0%)	11 (50,0%)		
<i>gene12</i> (Bouguennec et al., 2018)					
342	$r_s = -0,184$	2 (28,6%)	5 (71,4%)	55,2%	0,31
391	$r_s = 0,184$	11 (50,0%)	11 (50,0%)		
<i>TGlc2</i> (Bouguennec et al., 2018)					
279	$r_s = -0,184$	2 (28,6%)	5 (71,4%)	55,2%	0,31
291	$r_s = 0,184$	11 (50,0%)	11 (50,0%)		
<i>gene13</i> (Bouguennec et al., 2018)					
451	$r_s = -0,290$	1 (16,7%)	5 (83,3%)	58,6%	1,20
456	$r_s = 0,290$	12 (52,2%)	11 (47,8%)		

Примечание – темно-серой и светло-серой заливкой обозначены аллели, ассоциированные с высокой или низкой скрещиваемостью с рожью, соответственно; r_s – коэффициент корреляции Спирмена; Ef – диагностическая эффективность; χ^2 – критерий хи-квадрат с поправкой Йейтса.

Заклучение по разделу 3.2.3

Таким образом, генотипы СГП в сравнении с МП характеризовались меньшим аллельным разнообразием по локусам *cfb341*, *TGlc2*, *gene12* и *gene13*, сцепленным с геном *SKr*. У большинства из них (за исключением к-65508) присутствовали лишь аллели, ассоциированные с высокой или низкой скрещиваемостью с рожью, которые были также характерны и для всех изученных генотипов МП.

В идентификации генотипов СГП с высокой/низкой скрещиваемостью с рожью диагностические фрагменты локусов *cfb341*, *TGlc2*, *gene12* и *gene13* оказались малоэффективными. У генотипов преобладали аллели, ассоциированные у МП с «высокой скрещиваемостью» независимо от уровня скрещиваемости самих генотипов СГП. Данный факт может свидетельствовать об участии в контроле признака скрещиваемости СГП с рожью других генов.

3.3 Разработка полиморфных SSR-маркеров, ассоциированных с генами *SKr* и *Kr1*

Подводя промежуточные итоги проведенным исследованиям, мы пришли к заключению, что в литературе имеются сведения лишь о четырех ДНК-маркерах (*cfb341*, *gene12*, *TGlc2* и *gene13*), сцепленных с геном *SKr*, которые могут быть использованы как диагностические для поиска МП с высокой/низкой скрещиваемостью с рожью. Авторы, разработавшие эти маркеры, протестировали их на небольшой выборке из 13 сортов МП (Bouguennec et al., 2018). В нашем исследовании они впервые апробированы на репрезентативных выборках образцов МП (первый и второй наборы) и СГП (третий набор), различающихся по скрещиваемости с рожью (Поротников и др., 2022; 2025). В случае МП диагностически эффективными оказались аллели трех локусов (*cfb341*, *gene12* и *TGlc2*), которые имели достоверную ($\chi^2 > 3,84$) ассоциацию аллель-признак у 75% изученных генотипов. Однако, у остальных 25% генотипов присутствовали либо редкие и уникальные аллели, либо наблюдали неправильную ассоциацию аллель-признак (см. раздел 3.2.1).

Случаи неправильной ассоциации аллель-признак можно объяснить тем, что, во-первых, данные маркеры не являются внутригенными, а значит возможна рекомбинация между маркируемыми локусами и супрессором *SKr*; во-вторых, в контроле скрещиваемости с рожью у этих генотипов могут участвовать другие гены, в частности ген *Kr1*, который, как и *SKr*, может вносить существенный вклад в контроль скрещиваемости МП с рожью. В связи с этим, поиск с помощью ДНК-маркеров генотипов с высокой скрещиваемостью с рожью остается пока не до конца решенной задачей. Придя к такому заключению, мы поставили себе цель, прежде всего, расширить список микросателлитных маркеров.

В настоящее время у многих видов растений для генотипирования широко используют маркеры на основе анализа микросателлитных локусов – участков ДНК, представленных короткими tandemными повторами (SSRs) с размером мотива от 1 до 6 п.н. Число tandemных повторов мотива в SSR-локусах может достигать до нескольких десятков (Tautz, Renz, 1984; Li et al., 2002 а). При этом даже у представителей одного вида эта величина может сильно варьировать, что напрямую связано с происхождением генотипов, их адаптацией к различным эколого-географическим условиям (Roussel et al., 2004; Митрофанова и др., 2009; Самарина и др., 2024). В зависимости от длины, т.е. суммарного числа нуклеотидов в tandemно повторяющихся мотивах, микросателлиты относят к классу I (≥ 20 п.н.) или классу II (≤ 19 п.н.). Высоким полиморфизмом обладают микросателлиты класса I, тогда как из класса II по этому показателю практически не отличаются от уникальных последовательностей ДНК (Temnykh et al., 2001). Изменчивость SSR-локусов класса I связана с частотой их мутаций, которая существенно превышает ожидаемую частоту спонтанного мутагенеза, что было продемонстрировано на примере анализа десяти

динуклеотидных SSR-локусов у потомков от самоопыления дигамплоидного растения тетраплоидной пшеницы *Triticum turgidum* (L.) Thell. ssp *durum* desf. ($2n = 4x = 28$, ВБАА) (Thuillet et al., 2002).

Микросателлиты широко распространены в геномах эукариот, их средняя встречаемость составляет один на каждые 10000 п.н. (Brown et al., 1996). Особенности распределения простых tandemных повторов в хромосомах растений зависят от видовой принадлежности: у томата (*Lycopersicon esculentum* Mill.) они группируются в прицентромерных областях хромосом (Areshchenkova, Ganai, 1999), тогда как у риса (*Oryza sativa* L.) и арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh) встречаемость SSR-локусов вблизи центромер в 2-5 раз ниже (Guo et al., 2009). В случае МП они распределены по хромосомам относительно равномерно (Röder et al., 1998). Данный факт позволил успешно использовать маркеры, разработанные на основе микросателлитов, или SSR-маркеры, для составления молекулярно-генетических карт хромосом МП, анализа ее генетического разнообразия, решения вопросов филогении, генотипирования и молекулярной паспортизации ее сортов и линий, а также для маркер-вспомогательной селекции (Röder et al., 1998; Roussel et al., 2004; Alfares et al., 2009; Митрофанова и др., 2009; Bouguennec et al., 2018; Самарина и др., 2024).

Значимыми свойствами SSR-маркеров выступают высокий полиморфизм (один SSR-локус может быть представлен несколькими десятками аллелей), информативность и хорошая воспроизводимость результатов, поскольку праймеры для их амплификации специфичны к уникальным последовательностям, фланкирующим повтор (Mason, 2015). Недостатком SSR-маркеров является возможность гомоплазии, когда аллельные фрагменты одинакового размера отличаются независимыми мутациями (однонуклеотидные замены, индели) (Estoup et al., 2002).

Необходимо отметить, что SSR-анализ, позволяющий выявлять вариабельность микросателлитов, имеет свою методическую особенность. На электрофореграммах продуктов амплификации микросателлитных последовательностей могут возникать статтеры – ампликоны, отличающиеся от целевого пика на один или несколько повторяющихся мотивов (Tautz, Renz, 1984; Daunay et al., 2019). При этом в случае микросателлитов с мотивами 3-6 п.н. таких статтеров будет существенно меньше, чем в случае моно- и динуклеотидных мотивов. Использование SSR-маркеров с длиной tandemного повтора в три нуклеотида и более позволяет практически полностью исключить нежелательную амплификацию статтеров, повысив тем самым надежность и простоту интерпретации результатов. Однако для многих видов SSR-маркеры разработаны именно на основе динуклеотидных микросателлитов, что было связано с особенностями их поиска и выявления в геномах. Изначально обнаружение микросателлитов в геномах большинства культур проводили путем отбора содержащих SSR-мотивы ВАС-клонов или космидных векторов путем их гибридизации с ДНК-зондами, представляющими собой простые

тандемные повторы с мотивом в 2 п.н. (Röder et al., 1998, Vilanova et al., 2006). Таким способом было получено большое число полиморфных SSR-маркеров, широко применяемых для картирования генов, а также в исследованиях генетического разнообразия МП (Roussel et al., 2004; Hao et al., 2006; Alfares et al., 2009; Bertin et al., 2009; Митрофанова и др., 2009). В настоящий момент, благодаря наличию секвенированных геномов многих видов растений, стало возможным проводить поиск SSR-локусов в нужных участках *in silico*, что значительно упрощает и удешевляет разработку SSR-маркеров, удобных для анализа.

Таким образом, наш выбор SSR-маркеров обусловлен тем, что, с одной стороны, с их помощью можно точнее охарактеризовать изменчивость участков ДНК в местах расположения генов *Kr1* и *SKr*, а с другой стороны, выявить определенные аллели SSR-локусов, ассоциированные с проявлением признака скрещиваемости пшеницы с рожью. Для расширения перечня SSR-маркеров нужно было решить следующие задачи:

1. Методом *in silico* выявить SSR-локусы с повторяющимися мотивами 3-6 п.н. для участков локализации генов *SKr* и *Kr1*, разработать и апробировать специфичные праймеры для амплификации выявленных микросателлитных последовательностей;
2. Охарактеризовать SSR-локусы на репрезентативной выборке образцов гексаплоидной пшеницы из коллекции Всероссийского института генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР), различающихся по уровню скрещиваемости с рожью;
3. В случае ассоциации определенных аллелей локусов с высоким/низким уровнем скрещиваемости, определить их диагностическую эффективность.

3.3.1 Определение участков с локализацией генов *SKr* и *Kr1* в референсном геноме Chinese Spring (IWGSC CS RefSeq v2.1)

Для всех маркеров, фланкирующих гены *SKr* и *Kr1* (Alfares et al., 2009; Bertin et al., 2009; Bouguennec et al., 2018) был выполнен поиск сайтов отжига праймеров в геноме CS с помощью функции «ПЦР *in silico*» в программе Unipro UGENE v.50.0.

Для гена *SKr* в геномной сборке CS проведен поиск последовательностей ампликонов, генерируемых праймерами gene13 и gene12. Выбор данных маркеров обусловлен тем, что gene13 картирован проксимальнее гена *SKr*, а маркер gene12 косегрегирует с ним (Bouguennec et al., 2018) и потенциально может фланкировать *SKr* дистально. В результате, в качестве участка с геном *SKr* мы выбрали последовательность в 5,5 м.п.н. на коротком плече хромосомы 5В (рисунок 3.3.1).

В случае гена *Kr1* последовательности обоих фланкирующих его EST-SSR локусов *Xw5145* и *DR740708* (Bertin et al., 2009) были найдены в длинном плече 5В. Расстояние между

ними составило 5,7 м.п.н. Поскольку для *Kr1* не известны диагностические ДНК-маркеры, а также полиморфные маркеры, пригодные для генотипирования (известен только SSR-маркер Xgwm213), было решено несколько расширить этот участок. Для этого вместо *DR740708* был взят EST-SSR локус *Xw9340*, который находится дистальнее на 13 м.п.н. Другими словами, для гена *Kr1* на физической карте хромосомы 5В определили участок в 18,9 м.п.н. между EST-SSR локусами *Xw5145* и *Xw9340* (рисунок 3.3.1).

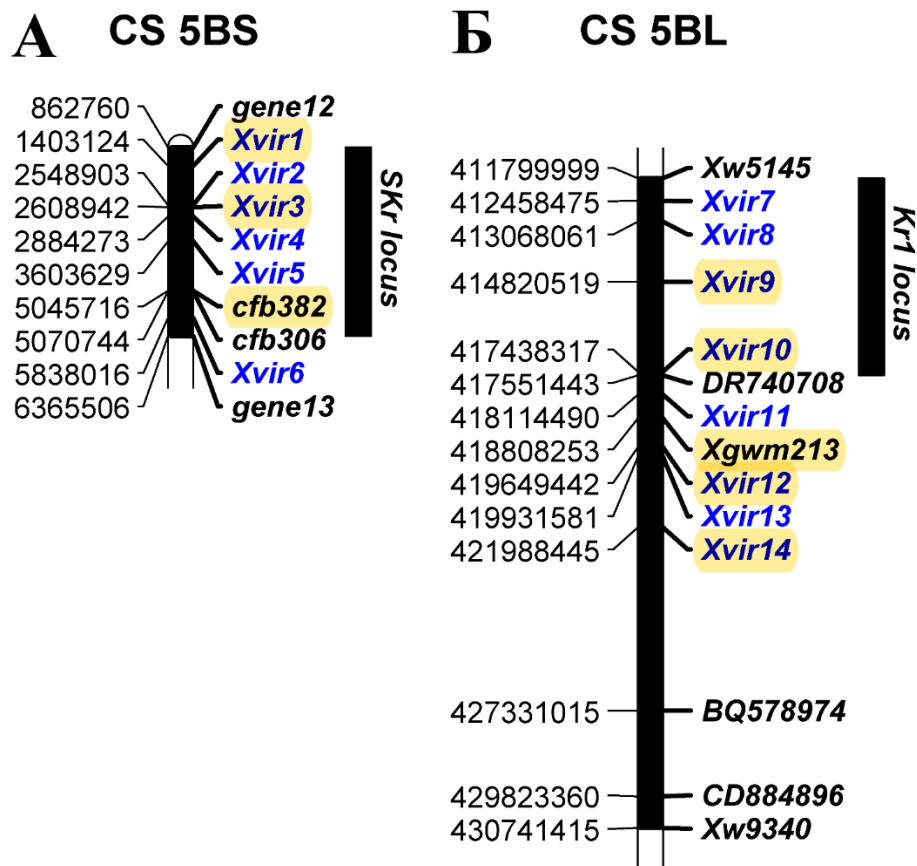


Рисунок 3.3.1 – Физические карты участков хромосомы 5В с локализацией генов (А) *SKr* (5BS) и (Б) *Kr1* (5BL) (Поротников и др., 2026). Использовали референсный геном CS (RefSeq v2.1). Синим шрифтом обозначены SSR-локусы, выявленные *in silico* и успешно апробированные на тестовой выборке из 16 генотипов МП. Бежевой заливкой выделены полиморфные SSR-локусы, участвовавшие в генотипировании. Слева указаны позиции локусов в геномной сборке хромосомы 5В.

Таким образом, в геномной сборке сорта CS нами были определены физические участки локализации генов *SKr* и *Kr1*, которые далее мы использовали для выявления микросателлитных локусов (Поротников и др., 2026).

3.3.2 Поиск SSR-локусов, разработка и апробация специфичных праймеров

На участке с локализацией гена *SKr*; размером 5,5 м.п.н. было обнаружено 19 различных микросателлитов с мотивами размером 3-6 п.н. В среднем один повторяющийся участок приходился на каждые 290 т.п.н. Для амплификации последовательностей шести SSR-локусов – *Xvir1*, *Xvir2*, *Xvir3*, *Xvir4*, *Xvir5* и *Xvir6* – были успешно разработаны специфичные праймеры (см. главу 2, таблица 2.3). Для остальных 13-ти SSR-локусов подобрать такие праймеры не удалось, поскольку в других участках генома мягкой пшеницы, а именно в хромосомах 5A и 5D, были выявлены сходные последовательности.

Для второго участка на длинном плече хромосомы 5B, размером 18,9 м.п.н. с локализованным геном *Kr1*, было идентифицировано 83 SSR-последовательности, в среднем одна на каждые 228 т.п.н., то есть их встречаемость оказалась несколько выше, чем в коротком плече 5B. Специфичные праймеры были сконструированы для амплификации только восьми SSR-локусов (таблица 2.3), для остальных микросателлитов такие праймеры подобрать не удалось по тем же причинам, что и в случае гена *SKr*.

Апробацию праймеров проводили с целью проверки специфичности их отжига, а также для выявления полиморфных SSR-локусов, пригодных для генотипирования. Помимо праймеров, разработанных нами, для апробации также были отобраны из литературных источников праймеры, специфичные для динуклеотидных SSR-локусов, *cfb382* и *Xgwm213*, ассоциированных с генами *SKr* и *Kr1*, соответственно (Röder et al., 1998; Alfares, 2009; Bertin et al., 2009).

Для апробации была использована тестовая выборка, представленная отдельными растениями (генотипами), отобранными из 16 образцов МП различного происхождения и уровня скрещиваемости с рожью. С высокой завязываемостью гибридных зерновок было восемь растений: из Афганистана (1), Китая (3), Монголии (1), Пакистана (1), России (1) и Японии (1). Остальные растения имели низкую скрещиваемость, они представляли образцы из Болгарии (1), Великобритании (1), Пакистана (2), России (2), США (1) и Франции (1). Считали, что при отборе растений из образцов, имеющих различное географическое происхождение, в составе формируемой выборки с большей вероятностью могут присутствовать генотипы, различающиеся по аллелям SSR-локусов.

В результате, на участке с геном *SKr* (хромосома 5BS) при апробации шести разработанных пар праймеров было выявлено только два полиморфных SSR-локуса – *Xvir1* и *Xvir3*, имеющих четыре и два аллеля, соответственно. Остальные четыре SSR-локуса оказались мономорфными. Также полиморфным, представленным четырьмя аллелями, оказался взятый нами из литературы SSR-локус *cfb382* (Alfares, 2009), который дополнительно был привлечен для тестирования.

Для участка с геном *Kr1* (хромосома 5BL) на той же выборке были апробированы разработанные нами праймеры для восьми SSR-локусов (таблица 2.3), а также праймеры для еще одного дополнительного взятого из литературы SSR-локуса *Xgwm213* (Röder et al., 1998). Из выявленных в этом исследовании SSR-локусов хромосомы 5BL четыре оказались полиморфными: у *Xvir14* выявлено десять аллелей, восемь – у *Xvir12*, три – *Xvir9* и два – *Xvir10*. Также полиморфным был SSR-локус *Xgwm213*.

В итоге, в результате апробации мы для последующих исследований отобрали два полиморфных SSR-локуса *Xvir1* и *Xvir3* для гена *SKr* и четыре *Xvir9*, *Xvir10*, *Xvir12*, *Xvir14* для гена *Kr1*, праймеры для амплификации которых давали специфичные, хорошо различимые в ПЛАГ ПЦР-продукты. Отобранные микросателлиты соответствовали классу I: они имели размер повторяющегося мотива от 3 до 6 п.н., число повторов мотива – от семи и более, т.е. общее число пар нуклеотидов превышало 20. Также мы включили в анализ SSR-локусы *cfb382* и *Xgwm213*, ассоциированные с генами *SKr* и *Kr1*, по литературным данным (Röder et al., 1998; Bertin et al., 2009; Alfares, 2009).

Для будущих работ по позиционному клонированию генов *SKr* и *Kr1*, а также для поиска генов-кандидатов были построены физические карты участков с локализацией этих генов, на которых нанесено расположение всех успешно амплифицированных последовательностей SSR-локусов, в том числе мономорфных (рисунок 3.3.1) (Поротников и др., 2026). Кроме того, в эти карты была интегрирована часть близко расположенных к генам *SKr* и *Kr1* маркеров из литературных источников (Alfares, 2009; Bertin et al., 2009; Bouguennec et al., 2018). Это позволило сопоставить расстояния на генетической и физической картах изучаемых регионов.

На участке с геном *SKr* генетическое расстояние между фланкирующими его локусами *gene12* и *gene13* составило 0,4 сМ (Bouguennec et al., 2018), на физической карте оно оказалось эквивалентно 5,5 м.п.н. и на данном участке нами обнаружено два полиморфных SSR-локуса *Xvir1* и *Xvir3* (Поротников и др., 2026).

Для участка с геном *Kr1* генетическое и физическое расстояние между фланкирующими его локусами *Xw5145* и *Xw9340* составило 2 сМ и 18,9 м.п.н., соответственно. Порядок расположения других известных локусов на физической карте соответствовал опубликованным данным (Bertin et al., 2009). Вероятнее всего, ген *Kr1* расположен между SSR-локусами *Xw5145* и *DR740708*, которые косегрегируют с ним. В данном участке нами выявлено два полиморфных SSR-локуса – *Xvir9* и *Xvir10*, которые наиболее близки к гену *Kr1* (рисунок 3.3.1) (Поротников и др., 2026).

3.3.3 Характеристика SSR-локусов

С целью определить, подходят ли выявленные SSR-локусы для генотипирования пшеницы, мы привлекли выборку из 78 растений (генотипов) гексаплоидной пшеницы (69 – МП и 9 – СГП), полученных отбором из 73 образцов различного географического происхождения и уровня скрещиваемости с рожью (приложение 6). Пять образцов МП были гетерогенными, в выборке они представлены двумя генотипами. В зависимости от уровня скрещиваемости с рожью, которая была определена нами и другими исследователями ранее (Krolow, 1970; Ригин, 1976; Суриков, Киссель, 1985; Zeven, 1987; Рехметулин, 1987; Rui et al., 1995; Tixier et al., 1998; Пюккенен, 2007; Bertin et al., 2009; Рубец, 2016; Поротников и др., 2022; 2025), генотипы были объединены в две группы: 51 с высокой (25,0-93,8%) и 27 с низкой (0,0-9,1%) скрещиваемостью.

В работе было использовано три SSR-локуса для участка с локализацией гена *SKr* (хромосома 5BS) и пять для участка с геном *Kr1* (5BL), отобранных по результатам апробации (таблица 3.3.2).

Таблица 3.3.2 – Характеристика SSR-локусов хромосомы 5В по результатам изучения 78 генотипов гексаплоидной пшеницы (Поротников и др., 2026)

SSR-локус	Мотив (у CS ¹)	Размер ПЦР-продукта (у CS ¹)	Диапазон размера выявленных фрагментов (п.н.) ²	Выявлено аллелей			Ne ³	PIC ⁴
				всего	редких (до 10%)	уникальных		
Хромосома 5BS								
<i>Xvir1</i>	(AAT) ₈	200	0, 200-212	5	1	0	2,5	0,60
<i>Xvir3</i>	(CATA) ₁₁	263	223-267	4	2	0	1,3	0,23
<i>cfb382</i>	(CT) ₁₅ (GT) ₁₂	196	0, 194-234	11	6	2	4,4	0,77
Хромосома 5BL								
<i>Xvir9</i>	(ATGT) ₇	203	187-203	4	0	0	2,3	0,56
<i>Xvir10</i>	(GGT) ₇	299	299-305	2	0	0	1,7	0,39
<i>Xgwm213</i>	(GA) ₃₅	184	148-232	29	12	9	22,2	0,96
<i>Xvir12</i>	(AAT) ₂₁	287	278-299	8	1	0	6,3	0,84
<i>Xvir14</i>	(TAA) ₁₇	248	218-257	11	4	0	7,1	0,86

Примечания: 1 – CS – Chinese Spring. 2 – Для SSR-локусов *Xvir1* и *cfb382* был выявлен нулевой аллель, т.е. отсутствие ПЦР-продуктов (у двух генотипов). 3 – *Ne* – число эффективных аллелей. 4 – *PIC* – polymorphic index content.

Число аллелей для выявленных нами SSR-локусов в изученной выборке было от двух (*Xvir10*) до 11 (*Xvir14*), среднее число аллелей на SSR-локус – 5,7. Значения индекса информационного полиморфизма *PIC* варьировали от 0,23 до 0,86, а число эффективных аллелей *Ne* от 1,7 до 7,1 (таблица 3.3.2). Наиболее полиморфными были SSR-локусы *Xvir1* (*PIC* = 0,60; *Ne* = 2,5), локализованный в хромосоме 5BS и *Xvir12* (*PIC* = 0,84; *Ne* = 6,3), *Xvir14* (*PIC* = 0,86; *Ne* = 7,1) – в хромосоме 5BL. Следует отметить, что новые SSR-маркеры *Xvir12* (AAT)₂₁ и *Xvir14*

(TAA)₁₇ оказались сопоставимы по индексу *PIC* с известными маркерами *cfb382* (CT)₁₅(GT)₁₂ и *Xgwm213* (GA)₃₅.

Выявленные и успешно амплифицированные в настоящем исследовании SSR-локусы с три- и тетрануклеотидными мотивами имели преимущество перед ранее использованными нами в методическом плане. На рисунке 3.3.2А, Б приведены электрофореграммы ПЦР-продуктов, полученных с использованием праймеров, специфичных для последовательностей SSR-локусов *cfb382* и *Xgwm213*. Для сравнения, на рисунке 3.3.2В, Г указаны SSR-локусы с более протяженными повторяющимися мотивами *Xvir1* (AAT)₈ *Xvir9* (ATGT)₇. Как видно, продукты амплификации, сгенерированные праймерами, специфичными для таких SSR-локусов, практически не образуют статтеров. На электрофореграммах нет характерной для локусов с динуклеотидными повторами «лестницы» из ПЦР-фрагментов, отличающихся от целевого продукта на один тандемный повтор. В ряде случаев такие статтеры могут практически не отличаться от целевого ПЦР-продукта, что затрудняет интерпретацию полученных данных. Таким образом, преимущество использования в анализе SSR-локусов с повторяющимися мотивами 3-6 п.н. заключается в упрощении интерпретации результатов.

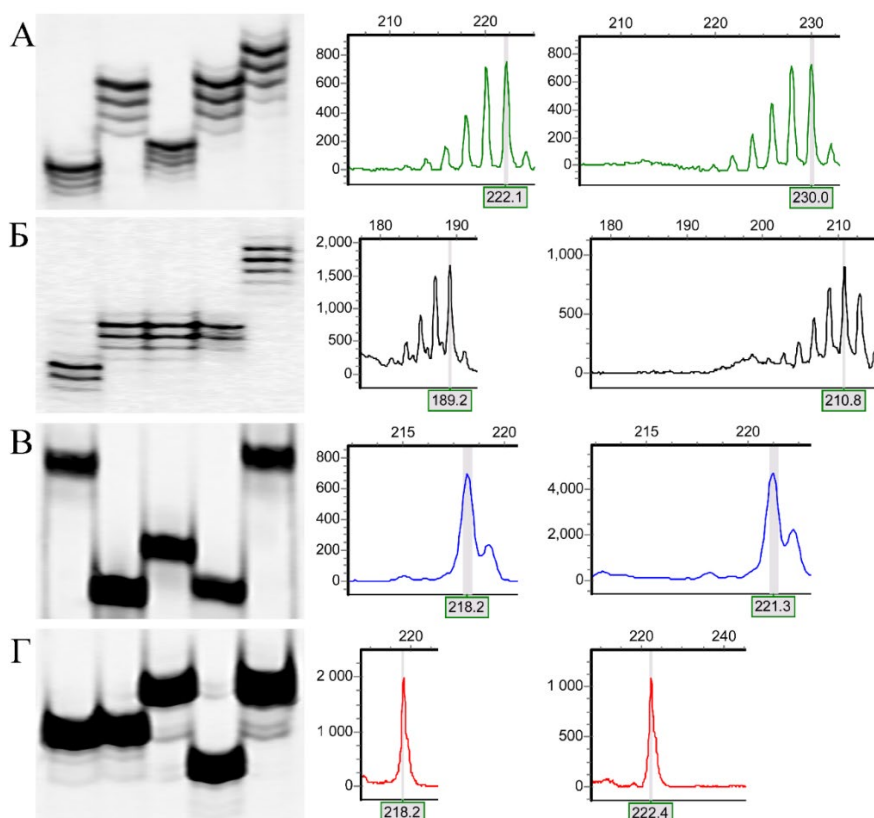


Рисунок 3.3.2 – Сопоставление результатов разделения ПЦР-продуктов для SSR-локусов с разной длиной повторяющегося мотива (Поротников и др., 2026): (А) SSR-локус *cfb382* (CT)₁₅(GT)₁₂, (Б) *Xgwm213* (GA)₃₅, (В) *Xvir1* (AAT)₈, (Г) *Xvir9*(ATGT)₇. Слева приведены электрофореграммы, полученные при электрофорезе в ПААГ с использованием LI-COR 4300S (LI-COR, Inc., USA), по центру и справа – с привлечением Нанофор 05 (Синтол, Россия). Размеры ПЦР-продуктов даны с учетом длины последовательности праймера M13 (19 п.н.).

3.3.4 Диагностическая эффективность аллелей SSR-локусов в идентификации генотипов мягкой пшеницы с высокой/низкой скрещиваемостью с рожью

Как было отмечено выше, выявленные нами SSR-локусы расположены в участках локализации генов *SKr* и *Kr1*, участвующих в контроле признака скрещиваемости МП с рожью. Поскольку они находятся близко к названным генам, не исключено, что аллели этих SSR-локусов могут быть ассоциированы с признаком высокой/низкой завязываемости гибридных зерновок. Для подтверждения этого факта из 78 растений гексаплоидной пшеницы были отобраны 69 растений МП, контрастных по скрещиваемости с рожью. Растения СГП были исключены из анализа, поскольку их недостаточная представленность в выборке (всего 9 растений) не позволила бы достоверно оценить ассоциацию аллелей локусов с проявлением признака.

Для каждого SSR-локуса в качестве маркерных рассматривали аллели, которые нам удалось соотнести с высокой или с низкой скрещиваемостью с рожью (таблица 3.3.3). При этом число генотипов МП с каждым из таких аллелей должно быть не менее пяти, чтобы можно было провести статистическую обработку данных. Этим условиям отвечали SSR-локусы *Xvir1*, *Xvir9* и *Xvir10*, у них аллели *Xvir1_206*, *Xvir9_199*, *Xvir10_300* преобладали у генотипов с низкой скрещиваемостью, а аллели *Xvir1_200*, *Xvir1_212*, *Xvir9_203*, *Xvir10_299* – у генотипов с высокой скрещиваемостью (таблица 3.3.3). Дополнительно, в анализ были включены маркеры *cfb341*, *gene12*, *TGlc2*, сцепленные с геном *SKr* и ранее нами использованные (см. раздел 3.2.1) при определении генотипов МП с высокой (аллели *cfb341_176*, *gene12_391* и *TGlc2_291*) и низкой (*cfb341_163*, *gene12_342* и *TGlc2_279*) скрещиваемостью (Bouguennec et al., 2018; Поротников и др., 2022; 2025). Остальные SSR-локусы (*Xvir3*, *Xvir12*, *Xvir14*, *cfb382*, *Xgwm213*) были представлены слишком большим числом аллелей, чтобы установить статистически значимую ассоциацию их с признаком на исследуемой нами выборке генотипов (таблица 3.3.2). В итоге, диагностическая эффективность была рассчитана для аллелей четырех локусов (*Xvir1*, *cfb341*, *gene12* и *TGlc2*), сопряженных с геном *SKr*, и двух (*Xvir9* и *Xvir10*) – с геном *Kr1*. Для них также определена достоверность ассоциации аллель-признак (критерий χ^2) и вычислена корреляция между встречаемостью аллелей и уровнем скрещиваемости с рожью.

Высокая диагностическая эффективность и статистически значимая ассоциация аллель-признак были характерны для аллелей локуса *Xvir1* ($Ef = 82,3\%$; $\chi^2 = 17,9$), связанного с геном *SKr*. Эти значения оказались сопоставимыми с рассчитанными для других локусов *cfb341*, *gene12* и *TGlc2*, тесно сцепленных с данным геном (таблица 3.3.3).

Впервые для гена *Kr1* мы оценили диагностическую эффективность аллелей SSR-локусов *Xvir9* и *Xvir10*, ассоциированных с признаком скрещиваемости с рожью. Данные локусы характеризовались небольшим числом аллелей и были широко представлены в выборке.

Присутствие маркерных аллелей, указывающих на «низкую» (*Xvir10_305*) и «высокую» (*Xvir9_203*, *Xvir10_299*) скрещиваемость с рожью достоверно коррелировало с проявлением самого признака, однако, корреляция была ближе к умеренной (таблица 3.3.3). В пользу невысоких значений коэффициента корреляции свидетельствовала также и более низкая (в сравнении с *SKr*), диагностическая эффективность аллелей локусов *Xvir9* ($Ef = 66,7\%$; $\chi^2 = 10,2$) и *Xvir10* ($Ef = 72,5\%$; $\chi^2 = 7,7$). Важно отметить, что генотипы с аллелем *Xvir9_199* были как с высокой, так и с низкой скрещиваемостью, примерно в равном соотношении (таблица 3.3.3). Поэтому для локуса *Xvir9* нами выявлен только аллель *Xvir9_203*, ассоциированный с высокой скрещиваемостью с рожью. Вместе с тем, *Xvir9* и *Xvir10* – это впервые идентифицированные локусы, сцепленные с геном *Kr1*, аллели которых имеют статистически значимую взаимосвязь с признаком. Немаловажным является тот факт, что *Xvir9* и *Xvir10* в полногеномной сборке CS (RefSeq v2.1) располагаются между EST-SSR локусами *Xw5145* и *DR740708*, которые косегрегируют с геном *Kr1* (Bertin et al., 2009) и, по-видимому, находятся близко от него.

Таблица 3.3.3 – Диагностическая эффективность аллелей локусов, ассоциированных с генами *SKr* и *Kr1*, в выявлении генотипов мягкой пшеницы с высокой/низкой скрещиваемостью с рожью (Поротников и др., 2026)

Аллель (п.н.)	r_s ($p < 0,05$)	Число (процент) генотипов с аллелем, сгруппированных по скрещиваемости с рожью:		Ef	χ^2 (3,84; $df = 1$, $p = 0,05$)
		Высокой	Низкой		
Локусы, ассоциированные с геном <i>SKr</i>					
<i>cfb341</i> (Alfares et al., 2009)					
163	$r = -0,43$	2 (18,2%)	9 (81,8%)	83,6%	15,5
176	$r = 0,53$	37 (84,1%)	7 (15,9%)		
<i>gene12</i> (Bouguennec et al., 2018)					
342	$r = -0,55$	1 (8,3%)	11 (91,7%)	83,6%	15,5
391	$r = -0,46$	41 (77,4%)	12 (22,6%)		
<i>TGlc2</i> (Bouguennec et al., 2018)					
279	$r = -0,43$	2 (18,2%)	9 (81,8%)	80,0%	17,5
291	$r = 0,46$	37 (84,1%)	7 (15,9%)		
<i>Xvir1</i>					
206	$r = -0,51$	1 (9,1%)	10 (90,9%)	82,3%	17,9
200	$r = 0,54$	30 (75,0%)	10 (25,0%)		
212		11 (11,0%)	0		
Локусы, ассоциированные с геном <i>Kr1</i>					
<i>Xvir9</i>					
199	$r = -0,40$	19 (48,7%)	20 (51,9%)	66,7%	10,2
203	$r = 0,41$	22 (91,7%)	2 (8,3%)		
<i>Xvir10</i>					
305	$r = -0,37$	7 (36,8%)	12 (63,6%)	72,5%	7,7
299	$r = 0,37$	38 (76,0%)	12 (24,0%)		

Примечание – темно-серой и светло-серой заливкой обозначены аллели, ассоциированные с высокой или низкой скрещиваемостью с рожью, соответственно; r_s – коэффициент корреляции Спирмена; Ef – диагностическая эффективность; χ^2 – критерий хи-квадрат с поправкой Йейтса.

3.3.5 Совместный учет аллельного состава локусов, связанных с генами *SKr* и *Kr1*, для выявления генотипов с высокой/низкой скрещиваемостью с рожью

В предыдущем разделе нами установлено, что по составу аллелей каждого из изученных локусов, связанных с участками локализации генов *SKr* и *Kr1*, не удастся идентифицировать все генотипы с высокой скрещиваемостью с рожью. Процент генотипов с правильной ассоциацией аллель-признак составил максимум 83,6% (таблица 3.3.3). Представляло интерес определить, с какими комбинациями аллелей сразу шести маркерных локусов *cfb341*, *gene12*, *TGlc2*, *Xvir1*, *Xvir9* и *Xvir10*, достоверно ассоциированных (кроме аллеля *Xvir9_199*) с высокой/низкой скрещиваемостью с рожью (таблица 3.3.3) будет связан уровень проявления этого признака. Для этого нужно было выделить эти комбинации аллелей у растений (генотипов) и проанализировать имеющиеся данные по уровню скрещиваемости растений. В анализе участвовало 44 из 69 генотипов МП. Всего у них обнаружено 11 различных комбинаций аллелей маркерных локусов, а растения, имеющие ту или иную комбинацию объединены в две группы – с высокой и низкой скрещиваемостью с рожью (таблица 3.3.4).

В комбинациях №1 и №2 у всех шести локусов присутствовали аллели, ассоциированные с высокой скрещиваемостью с рожью. Они были выявлены у 13 и семи генотипов, соответственно. Средняя скрещиваемость растений с рожью, имеющих рассматриваемые комбинации аллелей, была примерно одинаковой – 66,8% (комбинация №1) и 62,3% (№2). Все растения были отобраны из образцов происхождения из Китая и Японии. Можно предположить, что в генотипах этих растений присутствуют рецессивные аллели генов *SKr* и *Kr1*. Следует также отметить, что комбинацию аллелей №1 имели генотипы двух растений, у которых была определена наиболее высокая скрещиваемость с рожью – 90,0% и 93,8%. Растения были отобраны из образцов Л23-ХСР и Chinese Spring, соответственно.

Каждая из комбинаций аллелей №3–5 и №9–11 выявлена у одного-двух растений, при этом в трех первых комбинациях преобладали аллели маркерных локусов, ассоциированные с высокой скрещиваемостью, а в трех вторых – с низкой. В те же группы по скрещиваемости объединились и изученные растения. Среди них растение 2 (комбинация №3), отобранное из линии Л22-ХСР, с 93,8% завязавшихся зерновок при опылении рожью.

Растения с комбинациями аллелей №6 и №7 показывали как высокую, так и низкую скрещиваемость, при этом комбинация №6 была представлена аллелями, ассоциированными только с высокой скрещиваемостью, за исключением аллеля *Xvir9_199* локуса *Xvir9* (район локализации гена *Kr1*), который нам не удалось ассоциировать с признаком скрещиваемости. В комбинации №7 присутствовали аллели, ассоциированные с высокой скрещиваемостью по всем маркерным локусам, сцепленным с *SKr*, а по локусу *Xvir10* (район локализации гена *Kr1*) – аллель

Xvir10_305, который в основном присутствовал у растений (генотипов) с низкой скрещиваемостью. Эту комбинацию аллелей имели три растения с низкой скрещиваемостью и четыре с высокой. При этом два растения (генотипа), отобранные из Линии 430 (p.2) и Л19-ХСР (p.3) были с очень высокой скрещиваемостью: 93,3% и 92,0%, соответственно.

Таблица 3.3.4 – Комбинации аллелей, выделенные у 44 генотипов мягкой пшеницы по аллельному составу локусов, ассоциированных с высокой/низкой скрещиваемостью с рожью, и расположенных в районах локализации генов *SKr* и *Kr1*

Номер комбинации	SKr				Kr1		Ветвь кластера	Суммарное число генотипов (<i>N</i>) с данной комбинацией аллелей, (средняя скрещиваемость с рожью), образцы, из которых отобраны перечисленные генотипы
	<i>Xvir1</i>	<i>cfb341</i>	<i>TGlc2</i>	<i>gene12</i>	<i>Xvir9</i>	<i>Xvir10</i>		
Высокая скрещиваемость								
№1	200	176	291	391	203	299	1.1	<i>N</i> = 13 (66,8%): Akadaruma (p.3), Chinese Spring (p.3), Norin 16 (p.3), Л1-ХСР (p.1), Л12-ХСР (p.1), Л16-ХСР (p.2), Л21-ХСР (p.2), Л23-ХСР (p.1), Л27-ХСР (p.1), Л33-ХСР (p.1), Л40-ХСР (p.1), Л41-ХСР (p.2), Линия 421 (p.1)
№2	212	176	291	391	203	299		<i>N</i> = 7 (62,3%): Л3-ХСР (p.2), Л8-ХСР (p.1), Л10-ХСР (p.1), Л11-ХСР (p.1), Л14-ХСР (p.3), Л24-ХСР (p.1), Л32-ХСР (p.3)
№3	212	163	279	391	203	299		<i>N</i> = 1 (93,8%): Л22-ХСР (p.2)
№4	212	176	291	391	199	299		1.2
№5	212	176	291	391	199	305	<i>N</i> = 1(25,0%): Л6-ХСР (p.2)	
№6	200	176	291	391	199	299	<i>N</i> = 4 (60,5%): к-7997 (p.2), Л9-ХСР (p.1), Л18-ХСР (p1), Л37-ХСР (p.4)	
№7	200	176	291	391	199	305	<i>N</i> = 4 (75,5%): Bage (p.1), Л19-ХСР (p.3), Л31-ХСР (p.1), Линия 430 (p.2)	
№8	206	163	279	342	199	305	2	
Низкая скрещиваемость								
№6	200	176	291	391	199	299	1.2	<i>N</i> = 1 (6,0%): Lancer (p.1)
№7	200	176	291	391	199	305		<i>N</i> = 3 (3,7%): Acadia (p.6), Cheyenne (p.1), Mara (p.1)
№8	206	163	279	342	199	305	2	<i>N</i> = 4 (5,3%): Courtot (p.1), Klein Sin Pival (p.4), Ледовка (p.6), Мироновская 808 (p.1)
№9	200	163	279	342	199	305		<i>N</i> = 1 (2,0%): Немчиновская 24 (p.3)
№10	206	163	279	342	203	299		<i>N</i> = 1 (0,0%): Л6-ХСР (p.1)
№11	206	163	279	342	199	299		<i>N</i> = 1 (0,0%): Балаганка (p.3)

Примечание – темно-серой и светло-серой заливкой обозначены аллели, ассоциированные с высокой или низкой скрещиваемостью с рожью, соответственно; желтым выделены комбинации, общие для генотипов с высокой и низкой скрещиваемостью.

Особый интерес вызвала комбинация №8, у которой присутствовали аллели, ассоциированные с низкой скрещиваемостью по всем пяти локусам. Однако, помимо четырех несовместимых с рожью растений (генотипов), эта комбинация аллелей была выявлена у растения, отобранного из сорта Сибирка Ярцевская (p.1) и характеризующегося высокой скрещиваемостью. Данный генотип представляет особый интерес для более углубленного изучения, поскольку по всем маркерным локусам у него наблюдается несоответствие аллель-признак (таблица 3.3.4).

Полученные данные о выявленных аллелях маркерных локусов у 44 генотипов (таблица 3.3.4) были использованы для кластерного анализа, чтобы точнее понять структуру выявленного генетического разнообразия. На полученной дендрограмме можно выделить два основных кластера (рисунок 3.3.3).

Кластер 1 с субкластерами 1.1 и 1.2 объединил 36 генотипов, преимущественно из Восточной Азии. В **субкластер 1.1** вошел 21 генотип из Китая и Японии, все они были с высокой скрещиваемостью с рожью. Эти генотипы имеют следующие аллельные комбинации (таблица 3.3.4):

- **комбинация №1** (*Xvir1_200/cfb341_176/TGlc2_291/gene12_391/Xvir9_203/Xvir10_299*) представлена 13 генотипами, в том числе генотипом сорта CS;
- **комбинация №2** (*Xvir1_212/cfb341_176/TGlc2_291/gene12_391/Xvir9_203/Xvir10_299*), объединила семь генотипов;
- **комбинация №3** (*Xvir1_212/cfb341_163/TGlc2_279/gene12_391/Xvir9_203/Xvir10_299*) состояла из одного генотипа, принадлежащего растению линии Л22-ХСР.

О конкретных различиях и сходстве комбинаций аллелей маркерных локусов, сопряженных с высокой или низкой скрещиваемостью, можно судить по таблице 3.3.4.

Субкластер 1.2 объединил 15 генотипов МП, как с низкой (четыре), так и с высокой (11) скрещиваемостью с рожью. Данные генотипы имели комбинации аллелей №4-7. С высокой скрещиваемостью с рожью большинство (9 из 11) генотипов были из Китая, остальные два – из Монголии и Бразилии. С низкой завязываемостью – из Стран Нового света и Европы.

Кластер 2 представляли восемь генотипов с аллельными комбинациями №8-11. По географическому происхождению четыре генотипа были из Европы, два из Южной Сибири и по одному из Аргентины и Китая.

Таким образом, использование данных об аллельных вариантах шести локусов *cfb341*, *gene12*, *TGlc2*, *Xvir1*, *Xvir9* и *Xvir10*, ассоциированных со скрещиваемостью с рожью и находящихся в участках расположения генов *SKr* и *Kr1*, позволило выделить генотипы МП с высокой скрещиваемостью с рожью, которые имели распространенные в изученной выборке комбинации аллелей (№1-№2), не встречающиеся у генотипов с низкой скрещиваемостью (Поротников и др., 2026). По-видимому, генотипы с данными комбинациями несли рецессивные аллели обоих генов (*SKr* и *Kr1*). Аллельных комбинаций, достоверно ассоциированных с низкой скрещиваемостью с рожью выявлено не было.

В кластерном анализе генотипы и с низкой, и с высокой завязываемостью гибридных зерновок проявили тенденцию к образованию отдельных групп, при этом в составе групп присутствовали генотипы, представляющие образцы разного географического происхождения (Поротников и др., 2026).

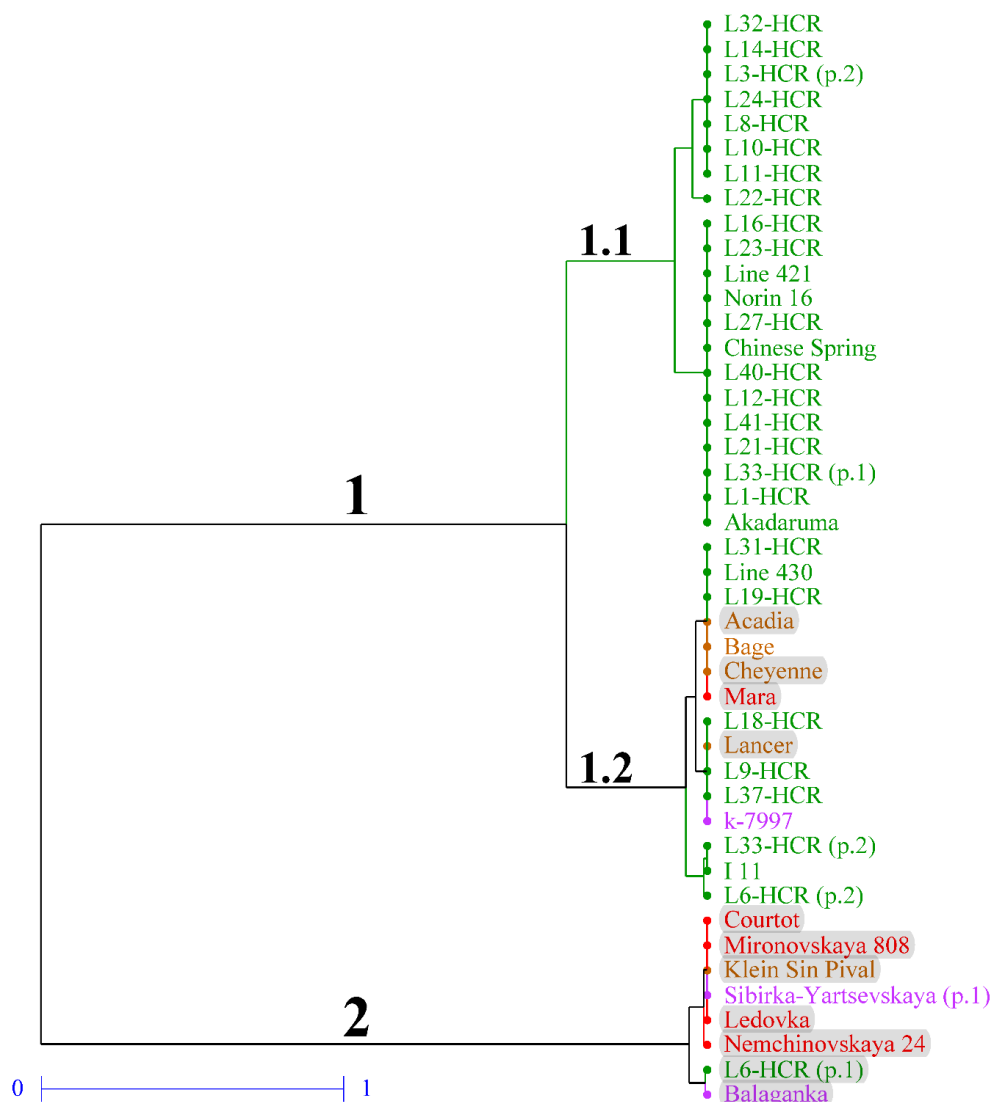


Рисунок 3.3.3 – Распределение 44 генотипов мягкой пшеницы на дендрограмме, построенной на основе анализа маркерных фрагментов шести локусов, ассоциированных с генами *SKr* и *Kr1* (Поротников и др., 2026). 1 и 2 – кластеры, 1.1 и 1.2 – субкластеры. Генотипы пшеницы в зависимости от их географического происхождения представлены различным цветом: красный – Европа, зеленый – Восточная Азия (Китай и Япония), розовым – Монголия и Южная Сибирь (Россия: Красноярский край и Иркутская область), коричневым – страны Нового Света. Серой заливкой отмечены генотипы с низкой скрещиваемостью с рожью.

Заклучение по разделу 3.3

Методом идентификации *in silico* в референсном геноме мягкой пшеницы сорта CS (RefSeq v2.1) выявлены микросателлитные локусы в целевых участках с генами *SKr* и *Kr1*. Для амплификации последовательностей 14 SSR-локусов с повторяющимися мотивами 3-4 п.н. разработаны специфичные праймеры. В результате тестирования праймеров шесть микросателлитных локусов оказались полиморфными: два для гена *SKr* (*Xvir1*, *Xvir3*) и четыре – для *Kr1* (*Xvir9*, *Xvir10*, *Xvir12*, *Xvir14*). Проверка апробированных праймеров SSR-локусов на выборке из 78 генотипов пшеницы различного географического происхождения и уровня скрещиваемости с рожью показала, что из них наиболее полиморфными были SSR-локусы *Xvir1*

($PIC = 0,60$; $Ne = 2,5$), *Xvir12* ($PIC = 0,84$; $Ne = 6,3$) и *Xvir14* ($PIC = 0,86$; $Ne = 7,1$), а диагностически эффективными в идентификации генотипов с высокой/низкой скрещиваемостью с рожью были аллели локусов *Xvir1* ($Ef = 82,3\%$) гена *SKr* и *Xvir10* ($Ef = 72,5\%$) – гена *Kr1*. У локуса *Xvir9* ($Ef = 66,7\%$) диагностической эффективностью обладал аллель *Xvir9_203*, но только для выявления генотипов с высокой скрещиваемостью.

Совместный анализ аллельного состава шести маркерных локусов *cfb341*, *gene12*, *TGlc2*, *Xvir1*, *Xvir9* и *Xvir10*, ассоциированных с генами *SKr* и *Kr1*, позволил выделить распространенные в изученной выборке аллельные комбинации (№1-№2), не встречающиеся у генотипов с низкой скрещиваемостью. В свою очередь комбинаций, достоверно ассоциированных с низкой скрещиваемостью с рожью, выявлено не было. В кластерном анализе генотипы с высокой и низкой скрещиваемостью с рожью имели тенденцию к образованию отдельных групп, на формирование которых также оказало влияние и географическое происхождение генотипов.

Расположение всех 14 SSR-локусов нанесено на физическую карту участков локализации генов *SKr* и *Kr1*, что может быть использовано для дальнейшего их позиционного клонирования. Данные об аллельном составе микросателлитных локусов у линий МП с высокой и низкой скрещиваемостью с рожью могут быть востребованы при подборе генотипов для скрещиваний и передачи признака высокой скрещиваемости с рожью в другие генотипы МП.

3.4 Поиск генов-кандидатов на роль *Kr1* и *SKr*

Установление физических участков локализации генов скрещиваемости пшеницы с рожью *Kr1* и *SKr* (см. предыдущий раздел) дает возможность провести направленный поиск генов-кандидатов, сопряженных с изучаемым признаком. Это важно как для установления механизма межродовой несовместимости МП с рожью, так и для разработки более эффективных внутригенных (функциональных) ДНК-маркеров.

Доминантные аллели генов *Kr1* и *SKr* вносят основной вклад в ингибирование скрещиваемости МП с рожью (Tixier et al., 1998; Bertin et al., 2009). Ген *SKr* в настоящий момент не секвенирован, его функция не известна. Более перспективным в этом плане выступает ген *Kr1*, для которого была получена полная нуклеотидная последовательность (Cai et al., 2012, 2016 a, b). Кроме того, опубликованы последовательности кДНК дифференциально-экспрессируемых фрагментов генов (DEF), которые могут потенциально относиться к гену *Kr1* (Manickavelu et al., 2009 a, b).

В связи с появлением секвенированных и аннотированных геномов различных сортов МП (Walkowiak et al., 2020; Zhu et al., 2021; Liu et al., 2025), необходимы дальнейшие работы по сопоставлению и анализу опубликованных и потенциально связанных с геном *Kr1*

последовательностей с современными базами данных. Кроме того, знание физической локализации генов *SKr* и *Kr1* позволит осуществить поиск генов-кандидатов в целевых участках генома. Таким образом, были поставлены следующие задачи:

1. В геномных сборках различных сортов МП уточнить физический участок локализации генов *Kr1* и *SKr*, используя полученные нами ранее данные об их расположении в референсном геноме CS (RefSeq v2.1) (см. раздел 3.3), а также литературные данные по молекулярно-генетическому картированию генов *Kr1* и *SKr* (Alfares et al., 2009; Bertin et al., 2009; Bouguennec et al., 2018).

2. Для гена *Kr1* в референсном геноме CS (RefSeq v2.1) определить каким генам соответствуют опубликованные последовательности, потенциально имеющие к нему отношение, согласно литературным данным (Manickavelu et al., 2009 a, b; Cai et al., 2016 a, b). Определить локализацию этих генов и охарактеризовать функцию тех, что расположены в хромосоме 5B;

3. Для гена *SKr*, осуществить поиск генов-кандидатов в участке его локализации, используя аннотированную геномную сборку МП сорта Lancer.

3.4.1 Анализ *in silico* генов-кандидатов на роль *Kr1*

В анализе использовали данные других исследователей, которые с помощью различных подходов получили продукты экспрессии генов, связанных с *Kr1*, и секвенировали сам ген (Manickavelu et al., 2009 a, b; Cai et al., 2016 a, b). Все эти последовательности указаны в таблице 3.4.1, их можно классифицировать следующим образом:

- 16 DEF последовательностей (TaDEF1-14; DEF1, 2) представляющих собой частичную кДНК генов, экспрессирующихся в тканях пестика цветка МП с низкой скрещиваемостью с рожью (Manickavelu et al., 2009 a, b);
- частичная последовательность кДНК гена *Kr1* сорта CS, а также других сортов МП (Cai et al., 2016 a);
- полная нуклеотидная последовательность гена *Kr1* сорта Mazhamai, несущего доминантный аллель *Kr1* (Cai et al., 2016 b).

Уточнение физического участка с локализацией гена *Kr1*. На основе референсного генома CS (RefSeq v2.1) мы ранее построили физическую карту участка хромосомы 5B с локализацией гена *Kr1* (см. раздел 3.3). На карте отражено местоположение маркеров, использованных для генетического картирования *Kr1* (Bertin et al., 2009), а также указано расположение SSR-локусов, выявленных и охарактеризованных в этой работе. При поиске гена-кандидата на роль *Kr1* для большей надежности дополнительно использовали более совершенную сборку сорта CS (CS-IAAS), полученную с использованием длинных прочтений

(Liu et al., 2025), а также сборки нескрещивающихся с рожью сортов Julius, Lancer и Stanley из проекта «10+ wheat genomes» (Walkowiak et al., 2020).

С помощью ПЦР *in silico* в геномах МП сортов CS (CS-IAAS), Julius, Lancer и Stanley были успешно найдены местоположения последовательностей ампликонов для всех маркеров, отмеченных нами ранее на карте референсного генома CS. Построены карты участка хромосомы 5BL с расположением гена *Kr1* для разных геномных сборок МП, с целью сравнения порядка расположения маркеров. Часть карт приведена на рисунке 3.4.1.

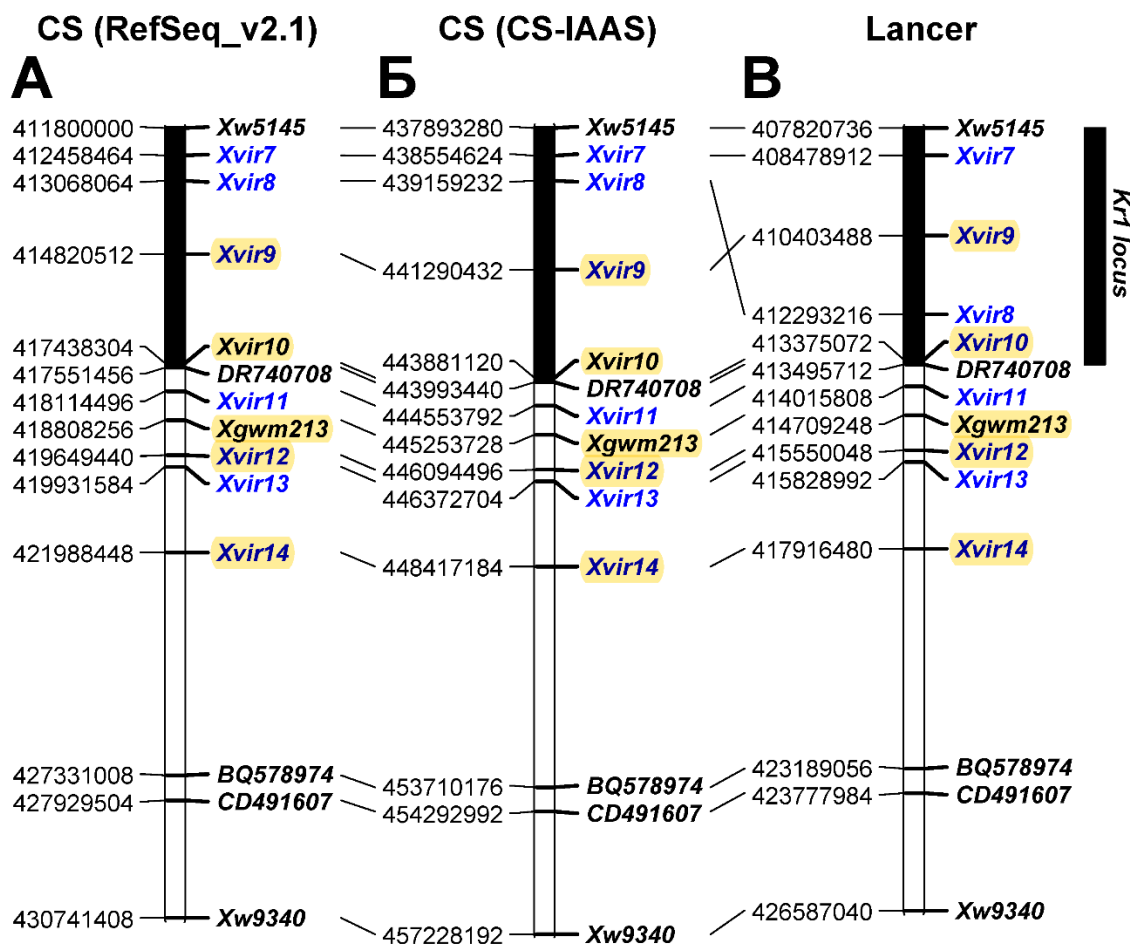


Рисунок 3.4.1 – Физические карты участков хромосомы 5BL с локализацией гена *Kr1*, построенные на основе геномных сборок сортов пшеницы: (А) CS (RefSeq v2.1), (Б) CS (CS-IAAS) и (В) Lancer. Синим шрифтом обозначены SSR-локусы, выявленные в этом исследовании (Поротников и др., 2026). Бежевой заливкой выделены полиморфные SSR-локусы, участвовавшие в генотипировании. Слева указаны позиции локусов в геномной сборке хромосомы 5В. Локусы с одинаковыми названиями соединены прямыми линиями. Черной заливкой обозначен участок с вероятным расположением гена *Kr1*.

В результате сопоставления карт показано, что порядок маркеров в хромосоме 5В референсного генома CS соответствует другим геномным сборкам МП. Исключение составила карта сорта Lancer, у которого порядок положения SSR-локусов *Xvir8* и *Xvir9* был обратным (рисунок 3.4.1). Таким образом можно утверждать, что участок хромосомы 5В, где расположен

ген *Kr1*, достаточно хорошо собран, как у референсного генома МП, так и у других геномов МП. Поэтому в качестве участка с расположением гена *Kr1* мы использовали указанный в геноме CS (RefSeq v2.1) интервал в 5,75 м.п.н. между EST-SSR-локусами *Xw5145* и *DR740708*.

BLAST-анализ потенциально относящихся к гену *Kr1* последовательностей и их локализация в геноме CS. При анализе опубликованных 14 TaDEF- и двух DEF-последовательностей оказалось, что DEF1 и TaDEF1 – одинаковы, они имеют один номер в базах данных NCBI (#AB289691.2). В связи с этим в дальнейшем изучении участвовало 15 последовательностей дифференциально-экспрессируемых фрагментов генов, все они приведены в таблице 3.4.1.

Все 15 опубликованных японскими исследователями (Manickavelu et al., 2009 a, b) последовательностей (TaDEF1-14; DEF2) с помощью BLAST-анализа нами соотнесены с гомологичными генами, аннотированными в геноме CS (RefSeq v2.1). Из них десять TaDEF-последовательностей с высокой степенью гомологии ($<1e-10$) соответствовали определенным генам пшеницы, а оставшиеся четыре TaDEF, включая DEF2 (обозначена как *Kr1*, псевдоген), не показали высокого сходства с генами, поэтому гомологов для них не приведено (таблица 3.4.1).

Согласно данным UniProt (<https://www.uniprot.org/>) белковые продукты обнаруженных десяти генов (каждый ген соответствовал определенной TaDEF) задействованы в процессах передачи сигнала и регуляции (TaDEF1, 3), в метаболизме (TaDEF5, 6), в биосинтезе (TaDEF2, 4), во внутриклеточном транспорте и поддержании структуры клетки (TaDEF10 и TaDEF8, соответственно), в поддержании стабильности генома (TaDEF12).

Расположение десяти генов, которым гомологичны TaDEF, было установлено на самых разных хромосомах МП, за исключением хромосом первой и второй гомеологичной группы (таблица 3.4.1). Из них на хромосоме 5В оказалось только два гена, они были гомологичны TaDEF2 и TaDEF5. Последовательность TaDEF2 имеет сходство с геном, кодирующим α -субъединицу цитоплазматической фенилаланил-ТФК-синтетазы пшеницы, которая участвует в биосинтезе белка (Saga et al., 2020). TaDEF5 гомологична гену цитозольной 1 ацетил-КоА-ацетилтрансферазы. Данный фермент катализирует обратимую реакцию превращения двух молекул ацетил-КоА в ацетоацетил-КоА – один из этапов синтеза изопреноидов, которые у растений играют важную роль в фотосинтезе, защите и регуляции роста (Vranová et al., 2013).

Анализ генов, гомологичных опубликованным последовательностям. На основе последовательности DEF2 (обозначена в NCBI как *Kr1*-псевдоген), китайские исследователи амплифицировали и секвенировали участок длиной 414 п.н., который был назван частичной последовательностью гена *Kr1* (Cai et al., 2012). Однако, проведенный нами BLAST анализ этого фрагмента в геноме сорта CS не выявил его гомологии ни с одним из аннотированных генов.

Далее был проведен BLAST-анализ частичной кДНК последовательности гена *Kr1* (Cai et al., 2016 a). Последовательность соответствовала гену, кодирующему белок DETOXIFICATION 45 (DTX45, NCBI #LOC123140152). DTX45 относится к семейству MATE (multidrug and toxic compound extrusion – белки множественной устойчивости и выведения токсичных соединений). В растениях MATE-белки играют важную роль в выводе из цитоплазмы различных токсинов (ксенобиотики, вторичные метаболиты, соли тяжелых металлов), что повышает устойчивость к абиотическим стрессорам (Li et al., 2002 b; Hasan et al., 2026). Примечательно, что в базе данных NCBI данный ген обозначен как *kr1*. В литературных источниках нет сведений о взаимосвязи функции белка с механизмами несовместимости у растений. Кроме того, ген, кодирующий DTX45 представлен копиями в хромосомах шестой гомеологичной группы, а также в хромосоме 7D (таблица 3.4.1), что противоречит известным данным о локализации *Kr1* в хромосоме 5B (Bertin et al., 2009).

Используя последовательность всего гена *Kr1*, опубликованную в статье китайских исследователей (Cai et al., 2016 b), мы провели ее выравнивание с геном, кодирующим DTX45, которое показало, что последовательность приведенного в NCBI гена DTX45 не соответствует указанному в статье сиквенсу гена *Kr1* (Cai et al., 2016 b).

Нами был осуществлен поиск гомологов для полной опубликованной последовательности гена *Kr1* (Cai et al., 2016 b). BLAST-анализ осуществляли как в геноме CS (RefSeq v2.1), так и в геномах сортов МП с низкой скрещиваемостью с рожью (Lancer, Julius). Оказалось, что последовательность гена *Kr1* представлена в геномах этих сортов отдельно, в виде двух фрагментов. При этом ни один из них не относится к какому-либо аннотированному гену мягкой пшеницы:

- первый фрагмент (6-1085 п.н., содержит первый экзон) встречается во всех хромосомах МП, демонстрируя высокую гомологию (более 88%);
- второй фрагмент (1081-3901 п.н., все остальные экзоны) был гомологичен последовательностям, относящимся минимум к 16 хромосомам всех трех субгеномов МП.

Заключение по разделу 3.4.1

Таким образом, нами были систематизированы данные об опубликованных последовательностях, потенциально имеющих отношение к гену *Kr1*. Часть последовательностей (TaDEF1-14, DEF2) была получена методами анализа дифференциальной экспрессии генов, которые транскрипционно активны в пестике цветка МП. Эти последовательности оказались гомологичны генам, расположенным в самых разных хромосомах МП. Только два из них оказались в хромосоме 5B, однако функционально они не связаны с геном *Kr1*, а их расположение в хромосоме не соответствовало участку локализации *Kr1* на физических картах (рисунок 3.4.1, таблица 3.4.1).

Опубликованные частичные последовательности гена *Kr1*, а также его полная геномная последовательность в результате проведенного BLAST-анализа не были связаны с признаком скрещиваемости МП с рожью как по функциям выявленных генов-гомологов, так и по их расположению. В связи с этим, потребуются дальнейшие исследования по поиску генов-кандидатов на роль *Kr1*.

Таблица 3.4.1 – Результаты BLAST-анализа последовательностей, имеющих отношение к гену *Kr1*, согласно литературным источникам

Поисковый запрос (выделен серым) и выявленные гены-гомологи	Номер в NCBI	Локализация в геноме CS (RefSeq v2.1)	Биологический процесс (UniProt)	NCBI BLAST (E value)
cDNA clone TaDEF1 (Manickavelu et al., 2009 a, b)	AB289691.2			
Рто-взаимодействующий белок 1	LOC123061164	3A (274193062-274197113)	Передача сигналов и регуляция	5.00E-130
	LOC123069740	3B (287113048-287116952)		1.00E-126
	LOC123078216	3D (192654867-192658817)		1.00E-126
cDNA clone TaDEF2 (Manickavelu et al., 2009b)	AB290671.1			
Фенилаланил-тРНК-лигаза, альфа-субъединица (цитоплазматическая)	LOC123121530	5D (329442791-329447451)	Биосинтез белка	1.00E-126
	LOC123103747	5A (425382174-425386810)		1.00E-126
	LOC123111963	5B (382019681-382024181)		5.00E-120
cDNA clone TaDEF3 (Manickavelu et al., 2009 b)	AB290672.1			
Протеинфосфатаза 2C 30	LOC123085413	4A (102417061-102418901)	Передача сигналов и регуляция	2.00E-61
	LOC123097934	4D (363257694-363259547)		4.00E-53
	LOC123092625	4B (447786051-447787924)		2.00E-41
cDNA clone TaDEF4 (Manickavelu et al., 2009 b)	AB290673.1			
Аминотрансфераза ACS12	LOC123165334	7D (34440305-34444270)	Биосинтез этилена	0.00E+00
	LOC543470	4A (695938187-695942378)		0.00E+00
	LOC123149202	7A (35324154-35328247)		0.00E+00
cDNA clone TaDEF5 (Manickavelu et al., 2009 b)	AB290674.1			
Ацетил-КоА-ацетилтрансфераза (цитозольная 1)	LOC123120873	5D (274900699-274907060)	Метаболизм	1.00E-131
	LOC123114758	5B (311286916-311294611)		2.00E-128
	LOC123101313	5A (362198500-362204616)		5.00E-125
cDNA clone TaDEF6, mRNA (Manickavelu et al., 2009 b)	AB290675			
Цитратсинтаза 3 (пероксисомная)	LOC123105232	5A (603445059-603450729)	Метаболизм	5.00E-31
	LOC123123023	5D (484911452-484917112)		2.00E-29
cDNA clone TaDEF7 (Manickavelu et al., 2009 b)	AB290676			
—	—	—	—	—
cDNA clone TaDEF8 (Manickavelu et al., 2009 b)	AB290677			
Белок А, содержащий домен ELMO	LOC123127881	6A (456285993-456289393)	Организация цитоскелета	1.00E-84
	LOC123137756	6B (517025340-517028627)		3.00E-76
	LOC123144973	6D (337573970-337577303)		4.00E-75

Продолжение таблицы 3.4.1

Поисковый запрос (выделен серым) и выявленные гены-гомологи	Номер в NCBI	Локализация в геноме CS (RefSeq v2.1)	Биологический процесс (UniProt)	NCBI BLAST (E value)
cDNA clone TaDEF9 (Manickavelu et al., 2009 b)	AB290678			
—	—	—	—	—
cDNA clone TaDEF10 (Manickavelu et al., 2009 b)	AB290679			
Субъединица транслоказы внутренней мембраны митохондрий (PAM16-подобная 2)	LOC123063543	3A (727840409-727842689)	Внутриклеточный транспорт	3.00E-96
	LOC123080847	3D (600174105-600176342)		7.00E-92
	LOC123072664	3B (821142055-821144493)		3.00E-81
cDNA clone TaDEF11 (Manickavelu et al., 2009 b)	AB290680			
L-арабинокиназа	LOC123136248	6B (146603273-146611949)	Метаболизм	1.00E-31
	LOC123143751	6D (87162506-87170957)		1.00E-31
	LOC123132207	6A (85887681-85896564)		3.00E-18
cDNA clone TaDEF12 (Manickavelu et al., 2009 b)	AB290681			
Белок OSB2 (хлоропластный)	LOC123080698	3D (583862021-583866221)	Стабильность генома	6.00E-46
	LOC123072469	3B (792187329-792191677)		3.00E-19
	LOC123063459	3A (717250807-717255137)		4.00E-08
cDNA clone TaDEF13 (Manickavelu et al., 2009 b)	AB290682			
—	—	—	—	—
cDNA clone TaDEF14 (Manickavelu et al., 2009 b)	AB290683			
—	—	—	—	—
cDNA clone DEF2 (Manickavelu et al., 2009 a)	AB379558.1			
—	—	—	—	—
Chinese Spring <i>Kr1</i> protein (<i>kr1</i>) cDNA, partial cds (Cai et al., 2016 a)	KU553296.1			
Белок DETOXIFICATION 45, хлоропластный (также известен как <i>kr1</i>)	LOC123140152	6B (730726824-730747826)	Транспорт токсинов	0
	LOC123129242	6A (622189647-622195574)		0
	LOC123146390	6D (495152434-495162381)		0
	LOC123167888	7D (16881175-16896994)		0
Полная нуклеотидная последовательность гена <i>Kr1</i> (Cai et al., 2016 b)	—			
—	—	—	—	—

3.4.2 Анализ *in silico* генов-кандидатов на роль супрессора *SKr*

Ген *SKr* картирован в тесном сцеплении с маркерами *cfb341*, *gene12* и *TGlc2*, которые косегрегировали с ним (Bouguennec et al., 2018). Известны также и другие маркеры, близко расположенные к *SKr* (таблица 1.2), в том числе и разработанные в настоящем исследовании (см. раздел 3.3). Таким образом, можно ожидать, что хорошая насыщенность маркерами участка с расположением гена *SKr* позволит осуществить поиск генов-кандидатов, используя данные по генетическому и физическому картированию *SKr*.

Уточнение физического участка с локализацией гена *SKr*. В референсном геноме CS (Refseq v2.1) нами ранее был определен участок длиной в 5,5 м.п.н. между локусами *gene12* и *gene13*, в котором локализован ген *SKr* (см. раздел 3.3). Поиск генов-кандидатов на роль *SKr* решили проводить в геноме другого сорта МП – Lancer, поскольку он в отличие от CS обладает низкой скрещиваемостью с рожью, а значит может иметь функциональный доминантный аллель *SKr*, который будет распознан алгоритмами автоматической аннотации генов. Оказалось, что определение локализации гена *SKr* в геноме этого сорта было сопряжено с рядом трудностей, вызванных несоответствиями в порядке расположения локусов в геномных сборках CS (Refseq v2.1) и Lancer (рисунок 3.4.2):

- в геноме CS (Refseq v2.1) в хромосоме 5BS не были найдены последовательности ампликонов для маркеров GBR0233, TGlc2, *cfb341*, первый из которых фланкирует ген *SKr* со стороны теломеры (Alfares et al., 2009), а остальные тесно сцеплены с ним (расстояние около 8 т.п.н.), однако эти локусы были выявлены у сорта Lancer;

- порядок большинства маркеров в геноме сорта Lancer отличается от их расположения в геноме CS (Refseq v2.1). Кроме того, в интервале между *gene12* и *gene13* у Lancer сосредоточено куда меньше маркеров, чем в геноме CS (Refseq v2.1), в частности, отсутствуют последовательности ампликонов SSR-маркеров Xvir2-6, *cfb306*, *cfb309*, *cfb382* (рисунок 3.4.2).

Это несоответствие между геномными сборками разных сортов МП могло быть связано с тем, что референсный геном CS изначально собирали из коротких прочтений, которые не всегда подходят для точной сборки столь сложного генома, характеризующегося наличием большого числа повторов (Zhu et al., 2021). В связи с этим мы взяли другую сборку этого же сорта CS (CS-IAAS), полученную на основе длинных ридов (Liu et al., 2025), и сравнили порядок расположения маркеров. Оказалось, что их положение в сборке сорта Lancer и сборке CS (CS-IAAS), полученной на основе длинных прочтений, было идентичным (рисунок 3.4.2). Кроме того, мы сравнили порядок расположения маркеров и на сборках других сортов МП из «10+ Wheat Genomes Project»:

Stanley и Julius – он также оказался одинаковым. Таким образом, для поиска генов-кандидатов на роль *SKr* мы стали использовать геномную сборку МП сорта Lancer.

Из-за различий в порядке маркеров в геномах Lancer и CS (CS-IAAS) мы пересмотрели участок с локализацией *SKr*. В этих двух сборках физически близко по отношению друг к другу расположенные маркеры *cfb306*, *cfb309* и *cfb382* (их расстояние до *SKr* – 0,6 сМ), оказались ближе к теломере, чем косегрегирующий с *SKr* маркер *gene12*. Это означает, что маркеры *cfb306*, *cfb309* и *cfb382* фланкируют ген *SKr* дистально. Проксимально же *SKr* ограничен маркером *gene13*, положение которого относительно других маркеров не изменилось, при сравнении геномных сборок разных сортов МП.

Таким образом в результате уточнения с другими геномными сборками МП, нами был пересмотрен физический участок с локализацией гена *SKr* – он находится между маркерами *cfb306* и *gene13*, расположенными соответственно дистально и проксимально; его размер в геноме сорта Lancer составляет 4,9 м.п.н. Данный участок был использован для поиска генов-кандидатов на роль супрессора *SKr*.

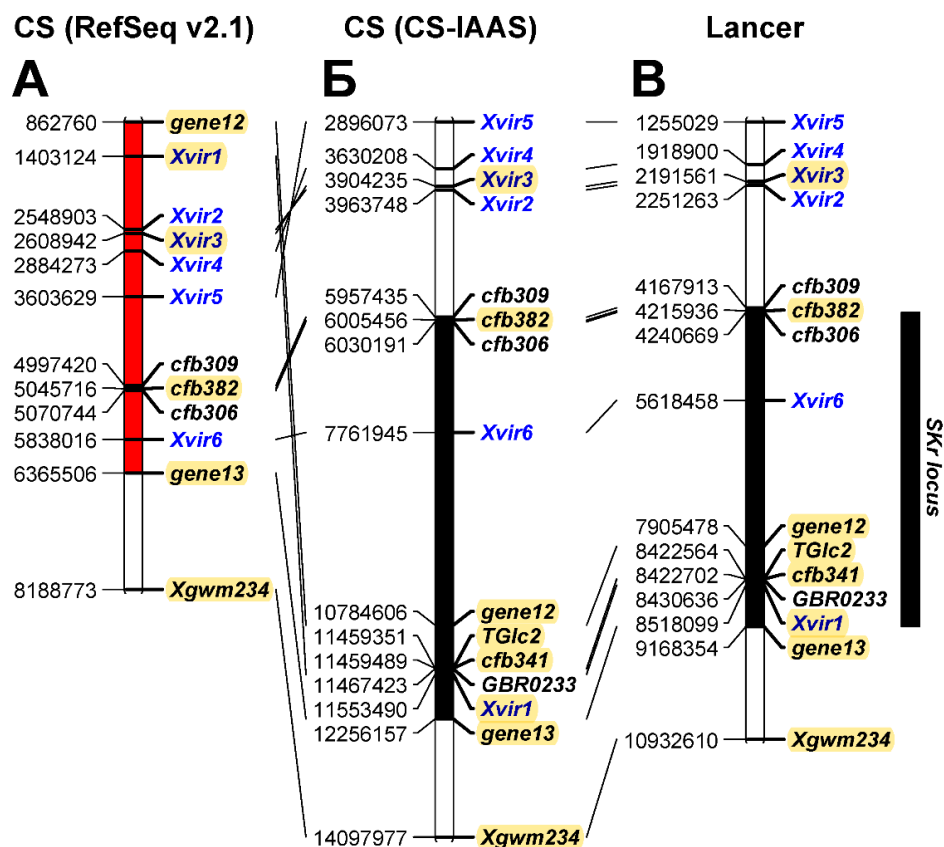


Рисунок 3.4.2 – Физические карты участков хромосомы 5В с локализацией гена *SKr*, построенные на основе геномных сборок сортов пшеницы: (А) CS (RefSeq v2.1), (Б) CS (CS-IAAS) и (В) Lancer. Синим шрифтом обозначены SSR-локусы, выявленные в этом исследовании (Поротников и др., 2026). Бежевой заливкой выделены маркеры, участвовавшие в анализе. Слева указаны позиции локусов в геномной сборке хромосомы 5В. Локусы с одинаковыми названиями соединены прямыми линиями. Черной заливкой обозначен участок с вероятным расположением гена *SKr*.

Поиск генов-кандидатов на роль *SKr*. Всего на участке между маркерами *sfb306* и *gene13* в геноме сорта *Lancer* находится 37 аннотированных генов, в частности гены *Gsp1B* и *ATPase1-5B*, которые локализованы рядом с *SKr* по литературным источникам (Alfares et al., 2009). Из 37 генов интерес представляют пять (таблица 3.4.2), в связи со следующими причинами:

– данные гены физически близко расположены к последовательностям маркерных локусов *gene12*, *TGlc2* и *cfb341*, которые косегрегируют с *SKr* (Bouguennec et al., 2018). Расстояние самого дальнего из этих генов до последовательности *gene12* составляет около 0,5 м.п.н.;

– белковые продукты данных генов выполняют транспортные и сигнальные функции, что потенциально может быть связано с действием *SKr* (распознавание чужеродной пыльцы, передача сигналов, питательных веществ для пыльцы, ответные реакции на пыльцу).

Таблица 3.4.2 – Выявленные гены-кандидаты на роль супрессора *SKr*

Локализация в хромосоме 5BS (<i>Lancer</i>)	Ген id (TraesLAC 5B03G...) Ensembl Plants	Белок	Биологический процесс (UniProt)	Полиморфизм АК-последовательности
7467556-7472547	02744130	Сахарозо-протонный симпортер	Транспорт сахарозы	$9 \text{ T} \rightarrow \text{G}$ (Julius, Stanley)
7698921-7702005	02744180	S-рецепторная лектиновая протеинкиназа G-типа	Передача сигнала, защитный ответ	$79 \text{ S} \rightarrow \text{P}$ (Julius, Stanley); $118 \text{ V} \rightarrow \text{I}$ (Julius, Stanley); $195 \text{ L} \rightarrow \text{P}$ (Julius, Stanley); $224 \text{ A} \xrightarrow{\text{S}} \text{S}$ (Julius, Stanley); $230 \text{ R} \xrightarrow{\text{RD}} \text{G}$ (Julius, Stanley); $231 \text{ G} \rightarrow \text{E}$ (Julius, Stanley); $380 \text{ G} \rightarrow \text{S}$ (Julius, Stanley); $414 \text{ K} \rightarrow \text{R}$ (Julius, Stanley); $460 \text{ M} \rightarrow \text{V}$ (Julius, Stanley); $717 \text{ A} \rightarrow \text{G}$ (Julius, Stanley); $868 \text{ C} \rightarrow \text{Y}$ (Julius, Stanley)
7804746-7807125	02744210	Белок транспорта сахаров STP/MST-подобный	Транспорт моносахаридов	$236 \text{ G} \rightarrow \text{E}$ (Julius, Stanley); $515 \text{ S} \rightarrow \text{N}$ (Julius, Stanley)
7903580-7908174	02744230	Протон-зависимые транспортеры олигопептидов	Транспорт пептидов	$28 \text{ A} \rightarrow \text{S}$ (Julius, Stanley); $197 \text{ R} \rightarrow \text{H}$ (Julius, Stanley); $316 \text{ V} \rightarrow \text{A}$ (Julius, Stanley); $332 \text{ V} \rightarrow \text{I}$ (Julius, Stanley); $346 \text{ L} \rightarrow \text{V}$ (Julius, Stanley); $413 \text{ T} \rightarrow \text{M}$ (Julius, Stanley); $602 \text{ P} \rightarrow \text{A}$ (Julius, Stanley)
8428392-8434699	02744300	АТФаза Р-типа	Ионный транспорт	$18 \text{ D} \xrightarrow{32} \text{L}$ (CS); $134 \text{ A} \rightarrow \text{T}$ (CS); $311 \text{ R} \rightarrow \text{Q}$ (vce); $370 \text{ V} \rightarrow \text{A}$ (vce)

Примечание – числа слева соответствуют положению мутации в последовательности белка гена. Мутации указаны относительно сорта *Lancer*, в скобках указаны сорта с выявленными мутациями.

– выявлен полиморфизм АК-последовательностей белков, кодируемых данными генами, у сортов МП, контрастных по скрещиваемости с рожью: CS и *Norin 61* с высокой скрещиваемостью и *Lancer*, *Julius* и *Stanley* с низкой. Однако полиморфизм не был связан с тем, что определенные АК-замены или индели присутствовали исключительно у сортов с низкой или высокой скрещиваемостью с рожью. Как правило, сорта CS, *Norin 61* и *Lancer* имели одинаковую АК-

последовательность белков (таблица 3.4.2), а сорта Julius и Stanley – другой ее вариант, отличный от первой группы.

Наибольшее число аминокислотных замен было выявлено при выравнивании продукта гена TraesLAC5B03G02744180, белок которого имеет сходство с S-рецепторными лектиновыми протеинкиназами G-типа (G-type lectin S-receptor-like kinases, G-LecRLK). Белки G-LecRLK относятся к обширной группе рецептороподобных киназ (RLK), играющих важную роль в росте и развитии растений, а также в восприятии биотических и абиотических стрессоров (Ye et al., 2017; Jose et al., 2020; Sun et al., 2020; Niu et al., 2025). Отдельную, уникальную для высших растений группу образуют лектин рецептороподобные киназы (LecRLK). В состав LecRLK входит вариабельный внеклеточный лектиновый домен, трансмембранный домен, а также достаточно консервативный внутриклеточный киназный домен, ответственный за передачу сигнала. В зависимости от варианта лектинового домена LecRLK подразделяют на три типа: G-тип (B-лектин), C-тип и L-тип. LecRLK G-типа – подсемейство растительных рецепторных белков, которые участвуют в распознавании экзогенных сигналов абиотической и биотической природы, а также запускают защитные и ростовые реакции растения (Niu et al., 2025). Важным является тот факт, что G-LecRLK гомологичны S-локусным рецепторным киназам (S-receptor kinase, SRK), идентифицированным в системе самонесовместимости у представителей семейства *Brassicaceae* (Kachroo et al., 2002; Takayama, Isogai, 2003). Несмотря на то, что МП – преимущественно самоопыляемая культура, LecRLK G-типа могут участвовать в распознавании пыльцевых трубок, аналогично SRK.

Заключение по разделу 3.4.2

Таким образом, с использованием различных геномных сборок МП была уточнена физическая карта участка с расположением гена *SKr*, которое определено участком между локусами *cfb306* и *gene13*. В этом интервале установлено, что *SKr* вероятнее всего находится рядом с последовательностями маркерных локусов *gene12*, *TGlc2* и *cfb341*, которые косегрегируют с ним по литературным данным.

На роль гена *SKr* предложен ген, кодирующий фермент, гомологичный S-рецепторной лектиновой протеинкиназе G-типа (TraesLAC5B03G02744180), которая может участвовать в распознавании пыльцевых трубок. Для верификации этого гена-кандидата потребуются дальнейшие исследования по анализу его экспрессии, сравнении его последовательности с генотипами МП, обладающими высокой и низкой скрещиваемостью с рожью.

3.5 Формирование эталонной (референсной) коллекции по признаку «скрещиваемость пшеницы с рожью»

Коллекция ВИР насчитывает 32138 образцов мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) Эффективное управление такой большой коллекцией – сложная задача. Один из путей решения – формирование в ее составе субколлекций из ограниченного числа образцов, но максимально представляющих спектр генетического разнообразия вида по какому-либо изучаемому признаку (признакам) (Frankel, 1984; Мережко, 1994) С такими субколлекциями, как со структурными элементами, интегрированными в большую коллекцию, проще работать, пополнять их недостающим генетическим разнообразием, то есть новым материалом, поддерживать подлинность и жизнеспособность включенных в нее образцов, собирать о них более полную информацию, проводить отбор образцов для использования в решении различных научных и селекционных задач (Brown, 1989 a, b; Fan et al., 2023). Подобные субколлекции близки по своему содержанию к так называемой «core-collection», которые были созданы для мягкой пшеницы в различных странах мира (Balfourier et al., 2007; Pascual et al., 2020; Berkner et al., 2024).

На основании полученных нами данных (см. разделы 3.1-3.3) было принято решение сформировать эталонную (референсную) коллекцию по признаку «скрещиваемость пшеницы с рожью». Основой для нее послужили фенотипированные по данному признаку растения (генотипы), которые были изучены нами с использованием известных из литературы и разработанных нами ДНК-маркеров. При отборе генотипов в эталонную коллекцию мы руководствовались следующими принципами:

1. Включенные в состав коллекции генотипы должны максимально полно отражать разнообразие как по уровню скрещиваемости пшеницы с рожью, так и по аллелям локусов, сцепленных с генами *SKr* и *Kr1*, контролирующими этот признак;

2. Генотипы должны представлять образцы различного биологического статуса: – сорта стародавней пшеницы; – селекционные сорта, снятые с районирования и возделываемые в настоящее время; – мутантные линии; – они могут быть представителями редких видов пшеницы или искусственно полученными аллополиплоидами, но с тем же числом хромосом и геномным составом, что и МП;

3. Образцы, из которых отобраны растения (генотипы), должны происходить из различных географических регионов России и мира и быть адаптированными к различным условиям внешней среды, то есть необходимо, как можно полнее учесть эколого-географическое разнообразие образцов пшеницы с высокой и низкой скрещиваемостью с рожью.

Сформированная с учетом названных выше принципов эталонная коллекция может найти применение при проведении дальнейших фундаментальных исследований скрещиваемости

пшеницы с рожью, а также способствовать применению маркер-вспомогательных технологий в селекции. Чтобы лучше контролировать подлинность генотипов этой коллекции, было решено провести их комплексный анализ и охарактеризовать их по аллелям генов других хозяйственно важных признаков. С одной стороны, это позволит точнее идентифицировать генотипы, с другой стороны, повысит эффективность использования формируемой коллекции. По мере дальнейшего решения проблемы скрещиваемости пшеницы с рожью будет происходить пополнение эталонной коллекции.

3.5.1 Общая характеристика формируемой эталонной коллекции

Основу эталонной коллекции по признаку «скрещиваемость пшеницы с рожью» составили 78 растений (генотипов), 69 из которых – МП, остальные 9 – СГП. Эти растения отобраны из 64 образцов – МП и девяти – СГП (приложение 7). Образцы МП поступили в коллекцию ВИР из 17 стран мира за период с 1922 по 2015 гг. Наиболее представлена пшеница из Китая (29 образцов из 11 преимущественно восточных провинций), Пакистана (семь) и России (шесть образцов). Все девять образцов СГП происходили из Мексики. Образцы имеют различный статус (32 относятся к традиционным/стародавним сортам, 28 – к улучшенным сортам, 13 – к селекционному/исследовательскому материалу) и тип развития (41 образец с яровым типом развития, 31 – озимым и к-28573 I 11, Китай – факультативный тип).

3.5.2 Разнообразие 78 генотипов по признаку скрещиваемости пшеницы с рожью и аллелям локусов, сцепленных с геном *SKr*

Отобранные для эталонной коллекции генотипы довольно полно представляют выявленное нами разнообразие по уровню скрещиваемости пшеницы с рожью, контролируемому генами *SKr* и *Kr1*, и аллелям маркерных локусов, сцепленных или ассоциированных с этим признаком. Из 78 растений (генотипов) 27 показали низкую (0,0-9,1%) завязываемостью гибридных зерновок и 51 – высокую (25,0-93,8%). Об уровне скрещиваемости каждого растения (генотипа) можно судить по данным, представленным на рисунке 3.5.1.

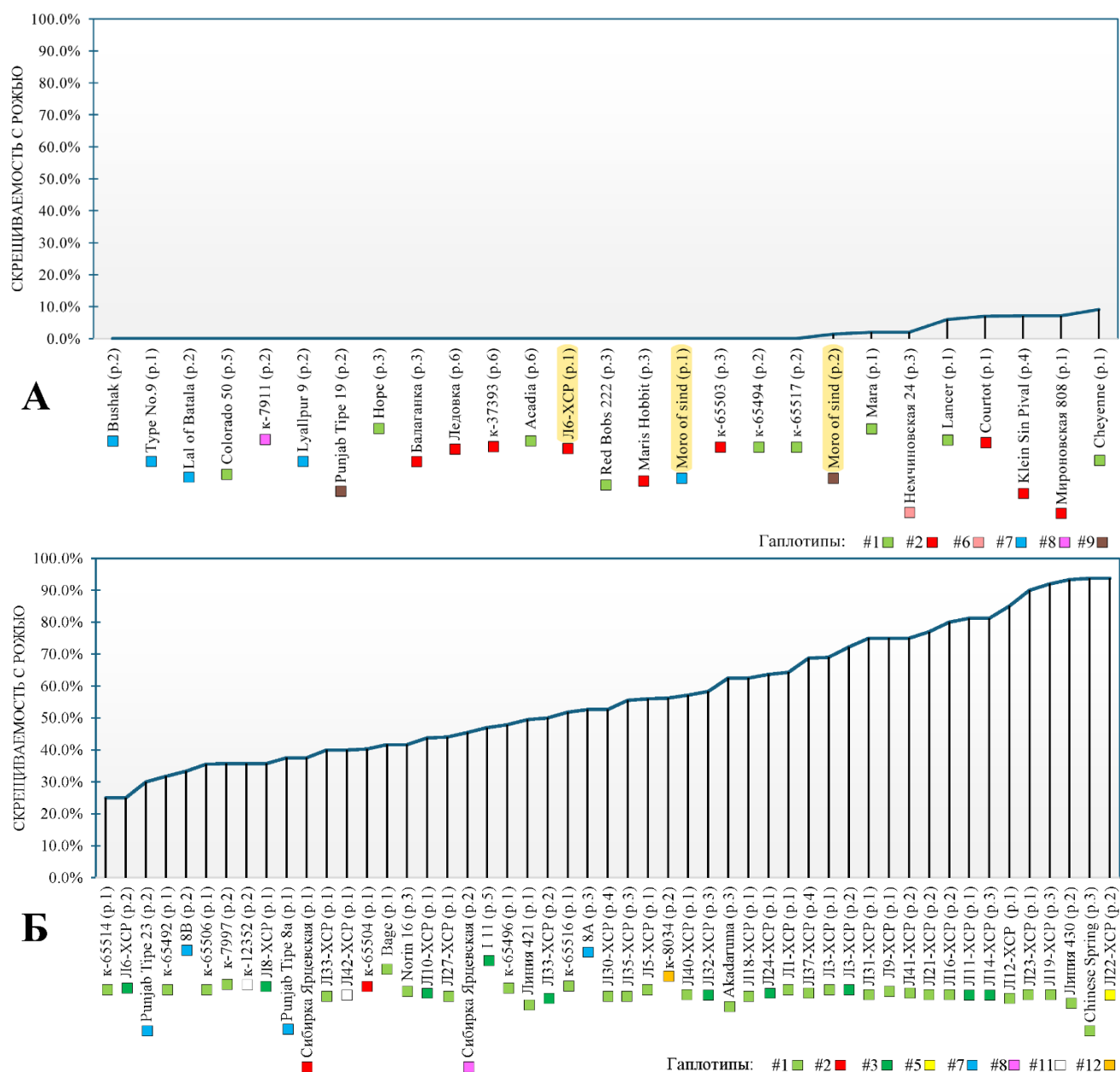


Рисунок 3.5.1 – Завязываемость гибридных зерновок (%): (А) у 27 растений (генотипов) пшеницы, характеризующихся низкой скрещиваемостью, (Б) у 51 растения (генотипа) с высокой скрещиваемостью с рожью. Желтым выделены растения, отобранные из гетерогенных образцов. В скобках обозначены номера изученных растений, семена которых представлены в эталонной коллекции.

На рисунке 3.5.2 обобщена информация о представленности гаплотипов, выделенных по аллельному составу локусов, сцепленных с геном *SKr*, у растений (генотипов), отобранных из образцов разных стран и различающихся по низкой/высокой скрещиваемости с рожью.

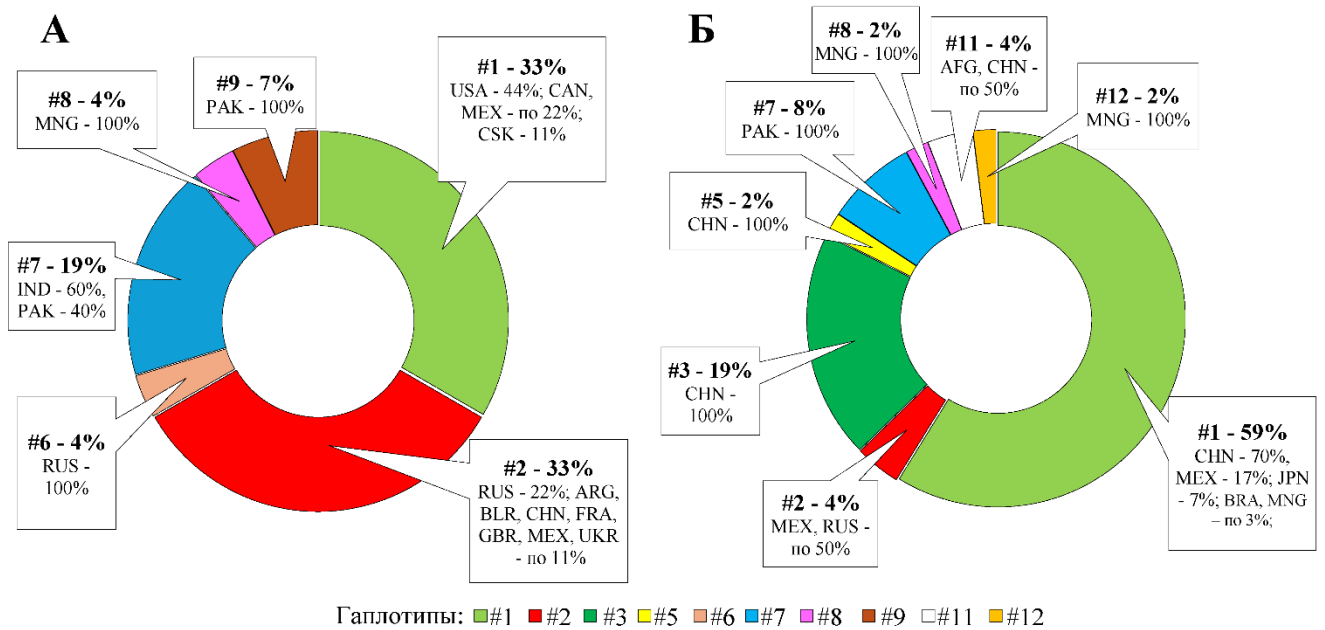


Рисунок 3.5.2 – Распределение гаплотипов локусов, сцепленных с геном *SKr*, у растений (генотипов) с низкой (А) и высокой (Б) скрещиваемостью с рожью, а также встречаемость этих гаплотипов у растений, отобранных из образцов разных стран. Процентами обозначена доля каждого из гаплотипов в группах по скрещиваемости с рожью, а также состав гаплотипов по странам происхождения.

Растения с низкой скрещиваемостью ($N = 27$) отобраны из образцов 14 стран мира: из различных регионов Азии – десять растений, Европы – семь и Нового света – десять. По аллельному составу сцепленных с геном *SKr* локусов у них выявлено шесть гаплотипов (#1, #2, #6-#9) (рисунок 3.5.2А), из которых три (#7-#9) с новыми аллелями.

Гаплотип #1 имеют девять растений (семь – МП и два – СГП), отобранных из образцов происхождением из США (четыре растения), Канады и Мексики (по два), а также из бывшей Чехословакии (одно растение). Скрещиваемость с рожью для них доходила до 9,1% (рисунок 3.5.1). Растения с #1 представляют интерес для дальнейшего изучения, поскольку по маркерным локусам *cfb341*, *gene12*, *TGlc2* и *gene13*, сцепленным с геном *SKr*, они характеризуются несоответствием «диагностические аллели-признак».

Гаплотип #2 встречается у других девяти растений (восемь – МП, один – СГП), скрещиваемость их с рожью, варьировала от 0% до 7,1% (рисунок 3.5.1). Растения отобраны из образцов разных географических регионов (рисунок 3.5.2А). Все растения с #2 были с правильной ассоциацией аллель-признак.

Гаплотип #6 был уникальным, он выявлен у растения российского сорта к-65757 Немчиновская 24. Данный гаплотип характеризуется редким сочетанием аллелей локусов *cfb341*, *gene12*, *TGlc2* и *gene13*.

Гаплотипы #7 и #9 имели растения, отобранные из образцов Пакистана и Индии. Гаплотип #7 встречался как у растений с низкой, так и с высокой скрещиваемостью (рисунок 3.5.1).

Гаплотип #9 был редким, в нашем случае он выявлен у растений образцов Пакистана (к-23797 Punjab Tіre 19 и к-52950 Moro of Sind). Все растения характеризовались низкой завязываемостью гибридных зерновок при опылении рожью.

Гаплотип #8 был уникальным в группе растений с низкой скрещиваемостью. Он принадлежал, растению, представляющему образец стародавнего сорта МП из Монголии (к-7911).

Растения с высокой скрещиваемостью ($N = 51$) были отобраны из образцов, происхождением из Афганистана, Бразилии, Китая, Мексики, Монголии, Пакистана, России и Японии. Эти растения имели восемь гаплотипов, выделенных по аллельному составу локусов *cfb341*, *TGlc2*, *gene12* и *gene13*, сцепленных с геном *SKr* (рисунок 3.5.1, рисунок 3.5.2Б). Четыре из них (#7, #8, #11 и #12) были с впервые описанными нами аллелями.

Гаплотип #1 преобладал (59%) у растений с высокой скрещиваемостью с рожью. Его имели преимущественно растения МП из Китая, а также СГП из Мексики. Для растений с #1 характерен наибольший разброс значений их скрещиваемости с рожью – от 25,0% до 93,8%. Растения с данным гаплотипом характеризовались правильной ассоциацией аллель-признак.

Гаплотип #2 был редким, он обнаружен у растений, отобранных из к-38587 Сибирка Ярцевская (МП) и к-65504 (СГП). Генотипы этих растений наиболее ценные для дальнейшего изучения, поскольку они имеют аллели, ассоциированные с низкой скрещиваемостью по всем маркерным локусам, сцепленным с геном *SKr*, несмотря на их высокую (37,5-40,3%) скрещиваемость с рожью (рисунок 3.5.1).

Гаплотип #3 оказался на втором месте по встречаемости (19%) у совместимых с рожью растений. Все растения с #3 происходили из Китая (рисунок 3.5.2). Величина показателя уровня скрещиваемости с рожью у растений с этим гаплотипом варьировала.

Гаплотипы #5, #8 и #12 были уникальными, они выявлены у растений образцов из Китая (к-28804 Л22-ХСР), России (к-38587 Сибирка Ярцевская) и Монголии (к-8034), соответственно. Для растений с #5 была характерна очень высокая скрещиваемость с рожью.

Гаплотип #7 был четвертым по распространенности, он характерен исключительно для растений образцов из Пакистана, скрещиваемость с рожью которых составляла 30,0-52,6%.

Гаплотип #11 выявлен у растений двух образцов (к-62782 Л42-ХСР из Китая и к-12352 из Афганистана) с примерно одинаковой скрещиваемостью с рожью (рисунок 3.5.1).

Таким образом, отобранные для эталонной коллекции растения (генотипы) отражают как выявленную нами изменчивость по уровню скрещиваемости пшеницы с рожью, так и описанное ранее (см. раздел 3.2) аллельное разнообразие по локусам, сцепленным с геном *SKr*. Они имеют девять гаплотипов, два из которых (#5 и #6) – с редкими комбинациями аллелей, а пять других (#7-9, #11 и #12) – с аллелями, впервые нами описанными. Растения с низкой скрещиваемостью

с рожью обладали шестью гаплотипами, два из них (#6 и #9) не встречались у группы с высокой скрещиваемостью. Более разнообразными были растения с высокой завязываемостью гибридных зерновок – они имели восемь гаплотипов, из которых четыре (#3, #5, #11, #12) оказались специфичными для этой группы.

3.5.3 Характеристика растений (генотипов) эталонной коллекции по аллелям SSR-локусов, находящихся на участках локализации генов *SKr* и *Kr1*

Отобранные для коллекции генотипы различались по аллелям восьми SSR-локусов, расположенных вблизи генов *SKr* (*Xvir1*, *Xvir3* и *cfb382*) и *Kr1* (*Xvir9*, *Xvir10*, *Xvir12*, *Xvir14* и *Xgwm213*). Для визуализации структуры разнообразия эталонной коллекции по аллельному составу этих SSR-локусов нами был проведен кластерный анализ (рисунок 3.5.3). Всего выделено два основных кластера.

Кластер 1 объединял большую часть (56 из 78) растений (генотипов) коллекции и состоял из двух отдельных субкластеров:

– **субкластер 1.1** был представлен 35 генотипами, из которых 32 – МП и три – СГП. По происхождению большинство (29 из 32) генотипов МП было из Восточной Азии. Исключение составили генотипы Punjab Tіre 23 (p.2), Tіre No.9 (p.1) и Maris Hobbіt (p.3), первые два из Южной Азии (Пакистан), а последний из Европы (Великобритания). Генотипы СГП располагались вместе на отдельной ветви (рисунок 3.5.3). Большинство генотипов (32 из 35) субкластера 1.1 принадлежало растениям с высокой скрещиваемостью с рожью.

– **субкластер 1.2** образовал 21 генотип, из них 17 – МП и четыре – СГП. Более половины (10 из 17) из генотипов МП относились к растениям, отобранным из образцов Афганистана, Пакистана и Индии, при этом располагались они на двух отдельных ветвях. Исключение составил генотип Балаганка (p.1) из Иркутской области, который был в одной группе с генотипами из Южной Азии. В состав субкластера 1.2 также вошли генотипы растений из Монголии (к-7997 (p.2), к-8034 (p.2)) и США (Lancer (p.1)), и три генотипа из Восточной Азии (рисунок 3.5.3). По скрещиваемости с рожью данный субкластер был смешанным: примерно половина (девять из 21) генотипов принадлежала растениям с низкой, а другая – с высокой скрещиваемостью.

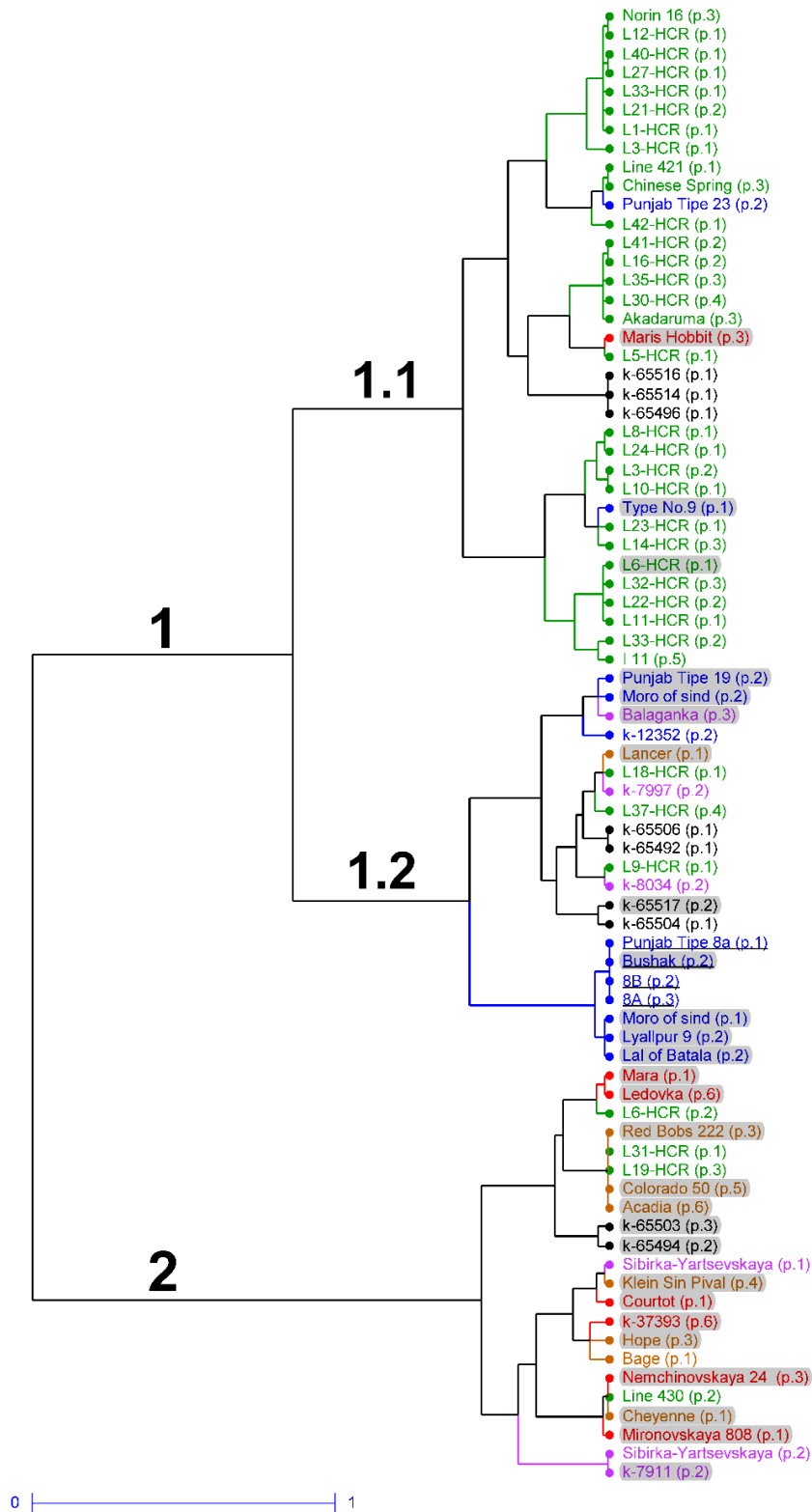


Рисунок 3.5.3 – Распределение 78 генотипов пшеницы на дендрограмме, построенной по аллельному составу восьми SSR-локусов, расположенных рядом с генами *SKr* и *Kr1*. 1 и 2 – кластеры, 1.1 и 1.2 – субкластеры. Генотипы пшеницы выделены различными цветами в зависимости от их происхождения и таксона: красным – Европа, зеленым – Восточная Азия (Китай и Япония), синим – Южная Азия (Афганистан, Пакистан, Индия), розовым – Монголия и Южная Сибирь (Красноярский край и Иркутская область), коричневым – страны Нового Света, черным – СГП. Серой заливкой отмечены линии с низкой скрещиваемостью с рожью.

Кластер 2 был самым разнообразным по происхождению образцов, из которых были отобраны растения (генотипы) (20 – МП и два – СГП): по шесть генотипов из стран Европы, Нового света (семь), Монголии (три) и Китая (четыре). Кластер 2 в большинстве своем включал генотипы (15 из 22) растений с низкой скрещиваемостью с рожью (рисунок 3.5.3).

Таким образом, растения (генотипы), изученные по аллельному составу восьми SSR-локусов, расположенных вблизи генов *SKr* и *Kr1*, в кластерном анализе объединились в группы в соответствии со страной-происхождения образцов, из которых они были отобраны, высокой/низкой скрещиваемостью с рожью, а также таксономической принадлежностью (МП и СГП). При использовании восьми SSR-маркеров 74 из 78 растений (генотипов) эталонной коллекции имели уникальные SSR-профили. Одинаковыми были только четыре генотипа (8A (p.3), 8B (p.2), Bushak (p.2), Punjab Tіpe 8a (p.1)), отобранные из образцов стародавней МП из Пакистана.

3.5.4 Характеристика 78 генотипов по аллелям генов других хозяйственно-ценных признаков

Для получения более целостного представления об особенностях, отобранных в эталонную коллекцию растений (генотипов) и проведения их надежной генетической идентификации, мы осуществили их комплексный анализ по аллелям генов других хозяйственно-ценных признаков. Такой анализ позволяет показать не только индивидуальные особенности генотипов, но и позиционировать их как доноров других важных для селекции аллелей генов, раскрыть взаимосвязи между аллелями генов различных признаков, оценить влияние генетической среды на их проявление. В нашей работе мы остановились на генах *Rht-B1* и *Rht-D1*, контролирующих высоту растений, а также генах *Vrn1* и *Ppd-D1*, определяющих тип развития и реакцию на длинный/короткий световой день, соответственно.

Гены *Rht-B1* и *Rht-D1*

Аллели генов *Rht-B1* и *Rht-D1* (Reduced height) широко используют для создания короткостебельных сортов мягкой пшеницы интенсивного типа (Hedden, 2003). Эти гены и фланкирующие их области секвенированы, в последовательностях описаны ассоциированные с изменением высоты растения однонуклеотидные замены, приводящие к образованию нонсенс-кодонов (аллели *Rht-B1b*, *Rht-B1e*, *Rht-B1p* и *Rht-D1b*), и различные инсерции (аллели *Rht-B1c*, *Rht-B1h* и *Rht-B1i-1*) (Peng et al., 1999; Ellis et al., 2002; Pearce et al., 2011; Divashuk et al., 2012; Li et al., 2012; Li et al., 2013; Bazhenov et al., 2015; Lou et al., 2016).

В селекции наиболее широкое распространение получили аллели *Rht-B1b* и *Rht-D1b* (источник – японский сорт Norin 10, снижение высоты растения на 20–24% по сравнению с

носителями аллелей дикого типа *Rht-B1a* и *Rht-D1a*), используемые во многих странах (Zhang et al., 2006; Guedira et al., 2010; Würschum et al., 2017) тогда как в России и СНГ широко применяют также аллель *Rht-B1e* (источник – Краснодарский Карлик 1, снижение высоты на 40%), обеспечивающий выраженную короткостебельность без существенного ухудшения других хозяйственно ценных признаков (Divashuk et al., 2012, 2013). Перспективным выступает аллель *Rht-B1p* (источник – Chris Mutant, снижение высоты на 30-35%), эффект которого практически не сказывается на размере колоса и урожайности (Черноок и др., 2017), а также аллели *Rht-B1h* (снижение высоты на 11%) и *Rht-B1i-1* (увеличение высоты на 10-12%). Последний из названных аллелей гена *Rht-B1* может быть использован для увеличения высоты растений, короткостебельных по аллелям других *Rht*-генов (Lou et al., 2016).

Для идентификации однонуклеотидных мутаций (аллели *Rht-B1b*, *Rht-B1e*, *Rht-B1p* и *Rht-D1b*) применяют ДНК-маркеры, основанные на принципе аллель-специфичной ПЦР (АС-ПЦР) (Ellis et al., 2002; Pearce et al., 2011; Divashuk et al., 2012; Bazhenov et al., 2015). Однако идентификация аллелей этим методом предъявляет повышенные требования к соблюдению условий реакции, а получаемые результаты не всегда однозначны. Альтернативой может быть CAPS-технология, детектирующая различия в последовательностях путем рестрикции ПЦР-продуктов (Shavrukov, 2016). В случае отсутствия рестриктаз, способных расщеплять ДНК в месте локализации точковой мутации, рестрикционные сайты могут быть искусственно внесены в последовательность праймера (derived CAPS) (Neff et al., 2002).

В связи с вышеизложенным, нами были поставлены следующие задачи:

1) Разработать CAPS- и dCAPS-маркеры для выявления замен оснований, подобрать по литературным источникам InDel-маркеры для детекции инсерций и тем самым предложить систему молекулярных маркеров для идентификации аллелей генов короткостебельности, часто используемых и перспективных для селекции;

2) С использованием разработанной системы ДНК-маркеров охарактеризовать по аллелям генов *Rht-B1* и *Rht-D1* растения (генотипы) гексаплоидной пшеницы, составивших основу эталонной коллекции по признаку скрещиваемости с рожью.

Разработка системы молекулярных маркеров для идентификации аллелей генов *Rht-B1* и *Rht-D1*. Для разработки CAPS- и dCAPS-маркеров из баз данных NSBI были взяты сиквенсы кодирующих участков следующих аллелей короткостебельности: *Rht-B1b*, *Rht-B1e*, *Rht-B1p* и *Rht-D1b*, а также последовательности аллелей дикого типа *Rht-A1a*, *Rht-B1a* и *Rht-D1a* (приложение 8). Выравнивание последовательностей подтвердило наличие нонсенс-мутаций у аллелей *Rht-B1b* (SNP₁₉₀ C→T), *Rht-B1e* (SNP₁₈₁ A→T), *Rht-B1p* (SNP₁₇₈ C→T) и *Rht-D1b* (SNP₁₈₁ G→T), что позволило приступить к разработке CAPS- и dCAPS-маркеров (рисунок 3.5.4).

Для каждой нонсенс-мутации был проведен поиск сайтов рестрикции, которые позволили бы отличить целевой аллель от всех остальных аллелей, в том числе аллелей дикого типа. В результате для идентификации аллелей *Rht-B1b*, *Rht-B1p* и *Rht-D1b* были созданы CAPS-маркеры CB1b/BstVII, CB1p/BstHNI и CD1b/BstSFI, соответственно (Porotnikov et al., 2022). Напротив, для аллеля *Rht-B1e* мы не смогли выявить сайты рестрикции в месте локализации нонсенс-мутации. Поэтому для него разработали dCAPS-маркер dCB1e/HinfI. Аналогично, для идентификации аллеля *Rht-B1b* был дополнительно сконструирован dCAPS-маркер dCB1b/Acc36I (рисунок 3.5.4).

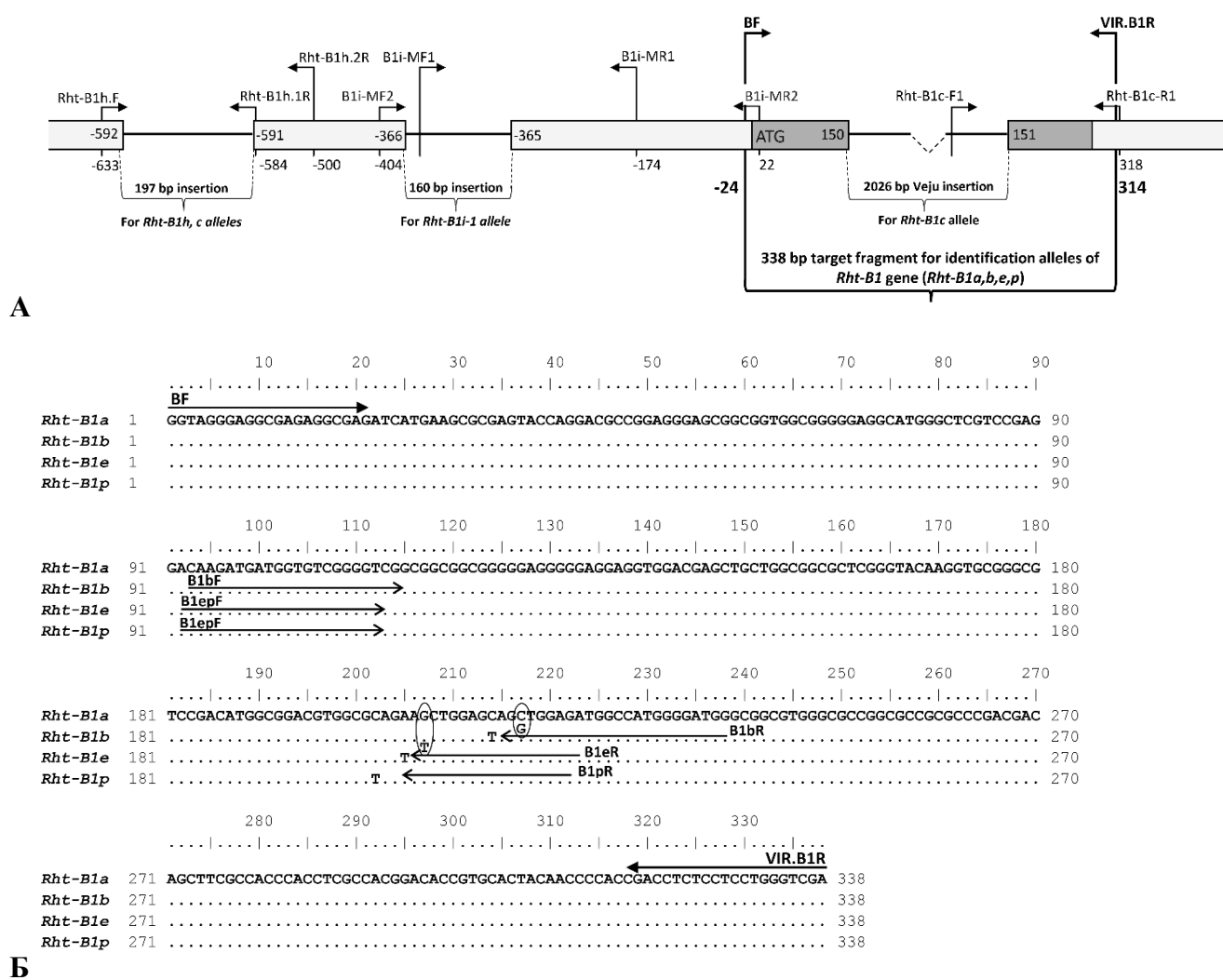


Рисунок 3.5.4 – Локализация праймеров для определения основных аллелей гена *Rht-B1* (Porotnikov et al., 2022). (А) Схема гена и соседних регионов с обозначенными местами локализации праймеров для первого раунда вложенной ПЦР и выявления инсерций у аллелей *Rht-B1c*, *Rht-B1h* и *Rht-B1i-1*. (Б) Результаты выравнивания последовательностей, ограниченных праймерами BF/VIR.B1R (первый раунд вложенной ПЦР), и праймеры для идентификации точковых мутаций у аллелей *Rht-B1b*, *Rht-B1e*, *Rht-B1p* методом CAPS/dCAPS-анализа. Границы вставки 197 п.о. и ретротранспозона Veju взяты из данных литературы (Wen et al., 2013; Lou et al., 2016). Кодировочная область гена выделена темной заливкой, тонкими линиями обозначены ретротранспозон Veju и инсерции в 5'-фланкирующей области. Овалами на рисунке отмечены замены нуклеотидов в dCAPS-праймерах.

Апробация системы маркеров аллелей генов *Rht-B1* и *Rht-D1*. Для апробации использовали 11 образцов МП из коллекции ВИР с известными аллелями генов *Rht-B1* и *Rht-D1* (таблица 2.1) (Peng et al., 1999; Pearce et al., 2011; Divashuk et al., 2013; Li et al., 2013; Bazhenov et al., 2015). Апробация велась для разработанных CAPS- и dCAPS-маркеров аллелей *Rht-B1b*, *Rht-B1e*, *Rht-B1p* и *Rht-D1b*, несущих нонсенс-мутации, а также для пяти InDel-маркеров, подобранных по литературным источникам для детекции аллелей *Rht-B1c*, *Rht-B1h* и *Rht-B1i-1*, содержащих инсерции (Pearce et al., 2011; Li et al., 2013; Lou et al., 2016).

– CAPS- и dCAPS-маркеры. При проведении ПЦР в обычных условиях с использованием в качестве матрицы геномной ДНК мягкой пшеницы нам не удалось получить четких фрагментов для dCAPS-маркеров и CAPS-маркера CB1p/BstHH. Поэтому мы применили метод вложенной ПЦР – в качестве матрицы для второго раунда ПЦР использовали продукты амплификации праймеров BF/VIR.B1R, которые фланкировали область локализации всех анализируемых точковых мутаций в гене *Rht-B1* (см. рисунок 3.5.4). В ходе апробации на выборке образцов мягкой пшеницы с известными аллелями генов короткостебельности все разработанные маркеры с высокой эффективностью дифференцировали дикий тип *Rht-B1a*, *Rht-D1a* и мутантные варианты *Rht-B1b*, *Rht-B1e*, *Rht-B1p* и *Rht-D1b* (рисунок 3.5.5 и 3.5.6).

– Аллель-специфичные маркеры из литературных источников. Параллельно для определения нонсенс-мутаций у *Rht-B1b*, *Rht-B1e*, *Rht-B1p* и *Rht-D1b* в сравнении с диким типом были использованы аллель-специфичные праймеры, взятые из литературных источников (Ellis et al., 2002; Pearce et al., 2011; Bazhenov et al., 2015). При этом для идентификации каждой мутации брали две пары праймеров, одна из них детектировала мутантный вариант, другая – дикий тип и все остальные аллели. Показано, что для *Rht-B1b*, *Rht-B1e* и *Rht-D1b* результаты аллель-специфичной ПЦР в целом совпадают с данными CAPS- и dCAPS-анализа. Однако идентификация аллелей дикого типа *Rht-B1a* и *Rht-D1a* при помощи праймеров BF/WR и DF2/WR2, соответственно (Ellis et al., 2002), была сопряжена с определенными трудностями: плохой воспроизводимостью результатов и образованием слабо выраженных фрагментов у форм с *Rht-B1b* и/или *Rht-D1b* (приложение 9). В случае *Rht-B1p* аллель-специфичная ПЦР в наших условиях оказалась неэффективной – при амплификации с праймерами Rht-B1p-F/R1 (Bazhenov et al., 2015) специфичный продукт образовывался и у форм с мутантными аллелями, и у форм с аллелями дикого типа (приложение 9).

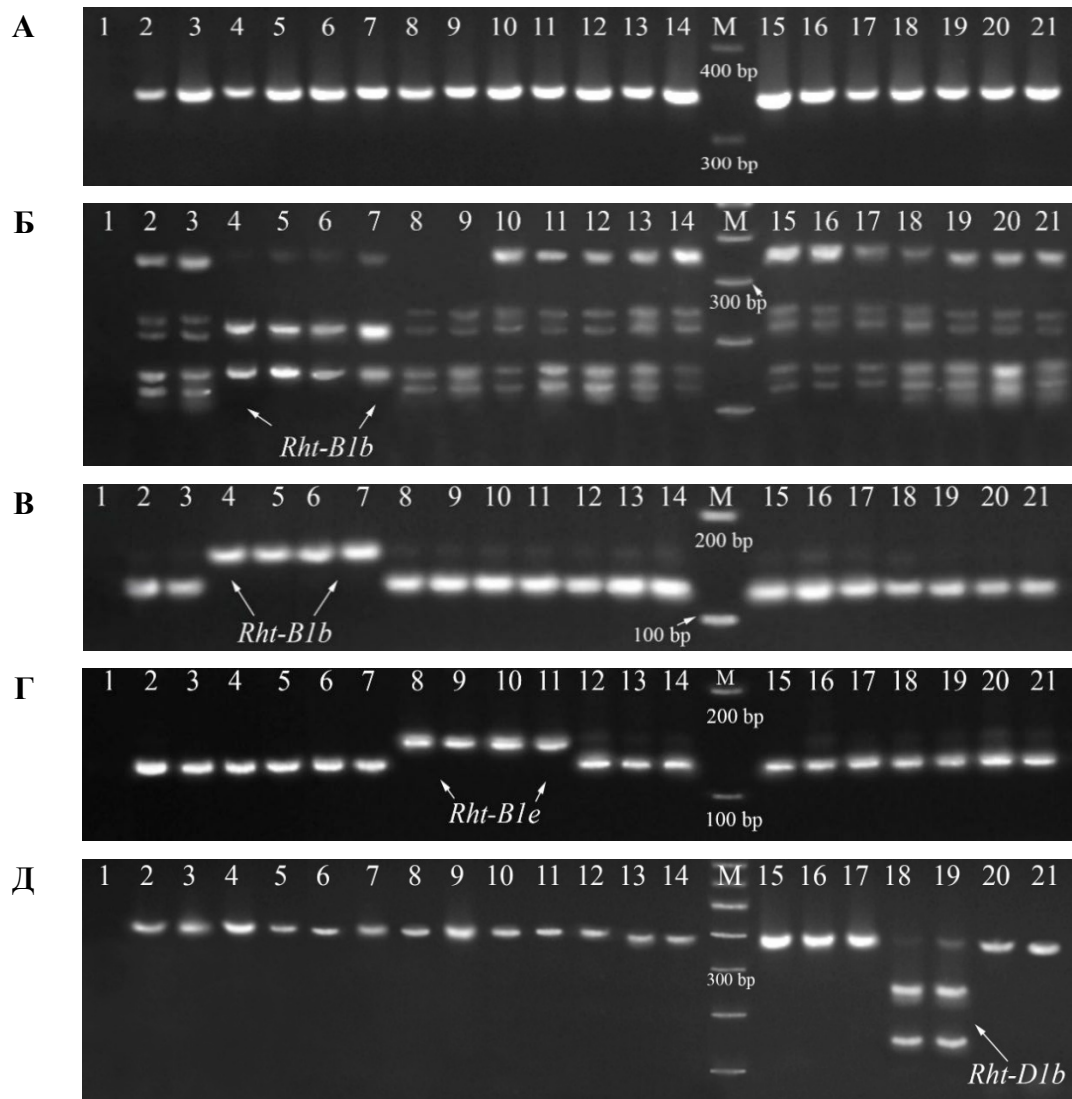


Рисунок 3.5.5 – Идентификация нонсенс-мутаций в генах *Rht-B1* и *Rht-D1* с использованием разработанных нами CAPS- и dCAPS-маркеров (Porotnikov et al., 2022). (А) Амплификаты, полученные с праймерами BF/VIR.B1R, служащие матрицей для второго раунда вложенной ПЦР. Б – Идентификация аллеля *Rht-B1b*: CAPS-маркер CB1b/BstV1I. (В) Идентификация аллеля *Rht-B1b*: dCAPS-маркер dCB1b/Acc36I. (Г) Идентификация аллеля *Rht-B1e*: dCAPS-маркер dCB1e/Hinfi. (Д) Идентификация аллеля *Rht-D1b*: CAPS-маркер CD1b/BstSFI. Цифрами обозначены образцы с различными аллелями *Rht-B1* и *Rht-D1*: 1 – отрицательный контроль (H₂O), 2, 3 – Hongdongmai (дикий тип); 4, 5 – Красота (*Rht-B1b*, *Rht-D1a*); 6, 7 – Княжна (*Rht-B1b*, *Rht-D1a*); 8, 9 – Гром (*Rht-B1e*, *Rht-D1a*); 10, 11 – Веда (*Rht-B1e*, *Rht-D1a*); 12, 13 – Chris Mutant (*Rht-B1p*, *Rht-D1a*); 14, 15 – Триумф (*Rht-B1i-1*, *Rht-D1a*); 16, 17 – Chinese Spring (дикий тип); 18, 19 – Zheng 9023 (*Rht-B1h*, *Rht-D1b*); 20, 21 – Atlas 66 (*Rht-B1h*, *Rht-D1a*). М – маркер молекулярного веса «100 bp+1.5 Kb+3 Kb» (СибЭнзим, Россия).

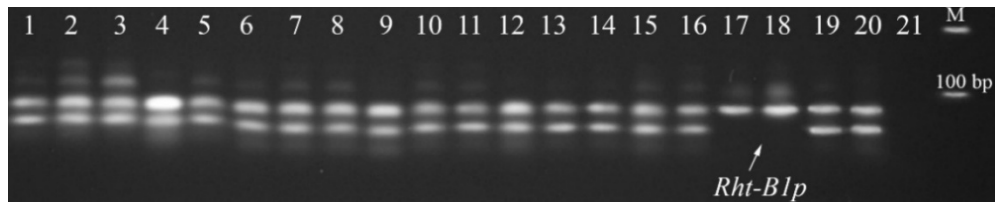


Рисунок 3.5.6 – Идентификация аллеля *Rht-B1p* при помощи CAPS-маркера CB1p/BstHII (Porotnikov et al., 2022). Стрелкой указаны генотипы с аллелем *Rht-B1p*, ПЦР-продукты которых не подверглись рестрикции. Цифрами обозначены образцы с различными аллелями генов *Rht-B1* и *Rht-D1*: 1, 2 – Hongdongmai (дикий тип); 3, 4 – Красота (*Rht-B1b*, *Rht-D1a*); 5, 6 – Княжна (*Rht-B1b*, *Rht-D1a*); 7, 8 – Гром (*Rht-B1e*, *Rht-D1a*); 9, 10 – Веда (*Rht-B1e*, *Rht-D1a*); 11, 12 – Триумф (*Rht-B1i-1*, *Rht-D1a*); 13, 14 – Chinese Spring (дикий тип); 15, 16 – Zheng 9023 (*Rht-B1h*, *Rht-D1b*); 17, 18 – Chris Mutant (*Rht-B1p*, *Rht-D1a*); 19, 20 – Atlas 66 (*Rht-B1h*, *Rht-D1a*); 21 – отрицательный контроль (H₂O). М – маркер молекулярного веса «100 bp+1.5 Kb+3 Kb» (СибЭнзим, Россия).

– InDel-маркеры из литературных источников. В исследование также были привлечены пять пар праймеров (Pearse et al., 2011; Li et al., 2013; Lou et al., 2016), позволяющих выявлять мутации, ассоциированные с наличием ретротранспозона в кодирующей области (аллель *Rht-B1c*), а также со вставками в промоторной зоне (*Rht-B1i-1*) и в 5'-фланкирующем участке (*Rht-B1h*). Местоположение данных инсерций приведено на схеме гена *Rht-B1*, на ней также указаны праймеры для их детекции (рисунок 3.5.4).

Проведенная нами апробация InDel-маркеров показала полное соответствие между присутствием их диагностических фрагментов и составом аллелей, имеющихся у изученных генотипов (рисунок 3.5.7).

Таким образом, нами предложена система молекулярных маркеров (Porotnikov et al., 2022), с помощью которой можно составить маркерный профиль для каждого из изученных нами аллелей генов, *Rht-B1* и *Rht-D1* (*Rht-B1b*, *Rht-B1c*, *Rht-B1e*, *Rht-B1h*, *Rht-B1p*, *Rht-B1i-1* и *Rht-D1b*), т. е. получить однозначный ответ о присутствии одного из перечисленных выше аллелей генов *Rht-B1* и *Rht-D1*, в том или ином генотипе. Маркерные профили аллелей представлены в таблице 3.5.1.

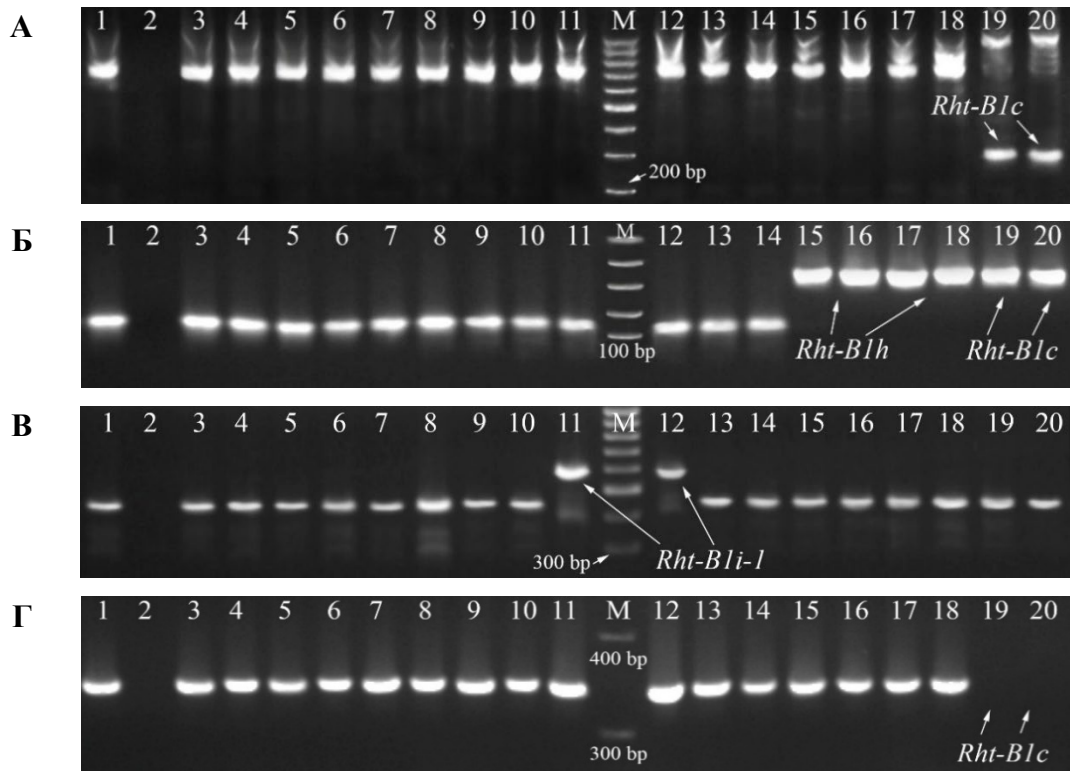


Рисунок 3.5.7 – Идентификация аллелей, несущих вставки, для гена *Rht-B1* с помощью InDel-праймеров. А – ПЦР-продукты праймеров *Rht-B1c-F1/R1*, специфичных для *Rht-B1c*. Б – ПЦР-продукты праймеров *Rht-B1h-MF1/MR2*, специфичных для *Rht-B1h* и *Rht-B1c*. В – ПЦР-продукты праймеров *B1i-MF2/MR2*, специфичных для *Rht-B1i-l*. Г – Отсутствие ПЦР-продуктов праймеров *BF/VIR.B1R* у генотипов с аллелем *Rht-B1c*, несущих вставку в 2026 п.н. Цифрами обозначены образцы с различными аллелями генов *Rht-B1* и *Rht-D1*: 1 – Красота (аллель *Rht-B1b*, *Rht-D1a*); 2 – отрицательный контроль (H_2O); 3, 4 – Княжна (*Rht-B1b*, *Rht-D1a*); 5, 6 – Гром (*Rht-B1e*, *Rht-D1a*); 7, 8 – Веда (*Rht-B1e*, *Rht-D1a*); 9, 10 – Chris Mutant (*Rht-B1p*, *Rht-D1a*); 11, 12 – Триумф (*Rht-B1i-l*, *Rht-D1a*); 13, 14 – Chinese Spring (дикий тип); 15, 16 – Zheng 9023 (*Rht-B1h*, *Rht-D1b*); 17, 18 – Atlas 66 (*Rht-B1h*, *Rht-D1a*); 19, 20 – Tom Thumb (*Rht-B1c*, *Rht-D1a*). М – маркер молекулярного веса «100 bp+1.5 Kb+3 Kb» (СибЭнзим, Россия).

Таблица 3.5.1 – Разработанная система ДНК-маркеров для идентификации аллелей генов *Rht-B1* и *Rht-D1* (Porotnikov et al., 2022)

Аллель (старое название гена)	Целевая мутация	CAPS/dCAPS-маркеры для выявления нонсенс мутаций (0 – отсутствие сайта рестрикции, 1 – присутствие)					Комбинации праймеров InDel-маркеров для выявления инсерций (размер ПЦР-продуктов указан в п.н.)				
		CB1b /BstV1I	dCB1b /Acc36I ¹	dCB1e /HinfI ¹	CB1p /BstH1I ¹	CD1b /BstSFI	B1i-MF1 /MR1	B1i-MF2 /MR2	Rht-B1c- F1/R1	Rht-B1h.F /1R	Rht-B1h.F /2R
<i>Rht-B1a</i>	Дикий тип	1	1	1	1	—	Нет ПЦР	426	Нет ПЦР	Нет ПЦР	134
<i>Rht-B1b</i> (<i>Rht1</i>)	¹⁹⁰ C → T	0 ²	0 ²	1	1	—	Нет ПЦР	426	Нет ПЦР	Нет ПЦР	134
<i>Rht-B1e</i> (<i>Rht11</i>)	¹⁸¹ A → T	1	1	0 ²	1	—	Нет ПЦР	426	Нет ПЦР	Нет ПЦР	134
<i>Rht-B1p</i> (<i>Rht17</i>)	¹⁷⁸ C → T	1	1	1	0 ²	—	Нет ПЦР	426	Нет ПЦР	Нет ПЦР	134
<i>Rht-B1c</i> (<i>Rht3</i>)	1) Инсерция ¹⁵⁰ G ↓ ²⁰²⁶ п.н. C 2) Инсерция ⁻⁵⁹² T ↓ ¹⁹⁷ п.н. C	Нет ПЦР ²	Нет ПЦР ²	Нет ПЦР ²	Нет ПЦР ²	—	Нет ПЦР	426	256 ²	247	331
<i>Rht-B1h</i>	Инсерция ⁻⁵⁹² T ↓ ¹⁹⁷ п.н. C	1	1	1	1	—	Нет ПЦР	426	Нет ПЦР	247 ²	331 ²
<i>Rht-B1i-1</i>	Инсерция ⁻³⁶⁶ A ↓ ¹⁶⁰ п.н. T	1	1	1	1	—	330 ²	586 ²	Нет ПЦР	Нет ПЦР	134
<i>Rht-D1a</i>	Дикий тип	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
<i>Rht-D1b</i> (<i>Rht2</i>)	¹⁸¹ G → T	—	—	—	—	1 ²	—	—	—	—	—

Примечания: 1 – для данных маркеров в качестве матрицы использованы продукты первого раунда вложенной ПЦР (разведение в 50 раз).
2 – серой заливкой отмечены продукты амплификации, наличие/отсутствие которых позволяет выявлять целевые аллели генов *Rht-B1* и *Rht-D1*.

Характеристика 78 растений (генотипов) эталонной коллекции по аллелям генов *Rht-B1* и *Rht-D1* с использованием предложенной системы ДНК-маркеров. В результате молекулярного скрининга наиболее часто встречаемым в исследуемой выборке из 78 генотипов гексаплоидной пшеницы был аллель *Rht-B1i-1* гена *Rht-B1*, ассоциированный с длинностебельностью (таблица 3.5.2). Он выявлен у семи генотипов МП различного географического происхождения, которые были отобраны из образцов, поступивших в коллекцию ВИР в 1923-1966 гг. Два генотипа с аллелем *Rht-B1i-1* имели высокую скрещиваемость с рожью, а остальные пять были с низкой. Аллель короткостебельности *Rht-B1h* (обуславливающий снижение высоты растений на 10-12%) был выявлен у генотипа, отобранного из линии Л5-ХСР, с высокой скрещиваемостью с рожью, а также у генотипа, представляющего сорт Maris Hobbitt, с низкой скрещиваемостью. Аллель короткостебельности *Rht-D1b* (снижение высоты на 20-25%) обнаружен у генотипов, отобранных из сортов Norin 16 и Courtot, обладающих высокой и низкой скрещиваемостью, соответственно (таблица 3.5.2). Других аллелей короткостебельности генов *Rht-B1* и *Rht-D1* в исследуемой выборке обнаружено не было.

Таблица 3.5.2 – Разнообразие растений (генотипов), отобранных для эталонной коллекции по аллелям генов *Rht-B1* и *Rht-D1*

Название генотипа	Номер по каталогу ВИР (к-)	Происхождение	<i>Rht-B1</i>	<i>Rht-D1</i>
Высокая скрещиваемость с рожью				
Сибирка Ярцевская (р.2)	38587	RUS	<i>Rht-B1i-1</i>	<i>Rht-D1a</i>
Л6-ХСР (р.2)	42445	CHN	<i>Rht-B1i-1</i>	<i>Rht-D1a</i>
Norin 16 (р.3)	51371	JPN	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1b</i>
Л5-ХСР (р.1)	61277	CHN	<i>Rht-B1h</i>	<i>Rht-D1a</i>
Низкая скрещиваемость с рожью				
к-7911 (р.2)	7911	MNG	<i>Rht-B1i-1</i>	<i>Rht-D1a</i>
Mara (р.1)	33785	CSK	<i>Rht-B1i-1</i>	<i>Rht-D1a</i>
Cheyenne (р.1)	35841	USA	<i>Rht-B1i-1</i>	<i>Rht-D1a</i>
Мироновская 808 (р.1)	43920	UKR	<i>Rht-B1i-1</i>	<i>Rht-D1a</i>
Lancer (р.1)	45291	USA	<i>Rht-B1i-1</i>	<i>Rht-D1a</i>
Maris Hobbitt (р.3)	49878	GBR	<i>Rht-B1h</i>	<i>Rht-D1a</i>
Courtot (р.1)	50738	FRA	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1b</i>

Примечание – жирным выделены аллели, не являющиеся аллелями дикого типа.

Таким образом, 78 растений (генотипов), отобранных для эталонной коллекции, имели четыре различные комбинации аллелей генов *Rht-B1* и *Rht-D1*, участвующих в контроле высоты растений. Из них комбинации *Rht-B1h/Rht-D1a* и *Rht-B1a/Rht-D1b* с аллелями короткостебельности *Rht-B1h* и *Rht-D1b* были выявлены у четырех генотипов, комбинация *Rht-B1i-1/Rht-D1a* с аллелем длинностебельности *Rht-B1i-1* – у семи генотипов. Остальные 67

генотипов (включая все генотипы СГП) имели комбинацию аллелей дикого типа *Rht-B1a/Rht-D1a*.

Характеристика по аллелям генов *Vrn1* (Vernalization Response) и гена *Ppd-D1* (Photoperiod Response)

Как было отмечено нами ранее, отобранные для эталонной коллекции растения (генотипы) пшеницы различались по типу развития: 44 имели яровой тип развития, 33 – озимый и одно – факультативный. Образцы, из которых они были отобраны, происходили из 17 стран мира, то есть, скорее всего были адаптированы к различным климатическим условиям. Учитывая это, мы решили охарактеризовать 78 генотипов коллекции по аллелям генов *Vrn1* и *Ppd-D1*, разнообразие которых будет свидетельствовать об адаптации к различным условиям произрастания (Dubcovsky, Dvorak, 2007).

Известно, что потребность в яровизации пшеницы контролируется генами *Vrn1-Vrn4*, из них наиболее существенно влияние генов *Vrn1-Vrn3* (см. обзор Muterko et al., 2015). Локус *Vrn1* (a MADS-box transcription factor) у МП представлен тремя гомеологичными копиями генов *Vrn-A1*, *Vrn-B1* и *Vrn-D1*, локализованных в длинных плечах хромосом 5-ой гомеологичной группы (Yan et al., 2003). Ген *Vrn-A1* действует эпистатически по отношению к остальным двум (Pugsley, 1971). Растения с доминантным аллелем данного гена имеют яровой тип развития, независимо от аллельного состава *Vrn-B1* и *Vrn-D1*. В свою очередь, наличие доминантных аллелей генов *Vrn-B1* и *Vrn-D1* может приводить, как к яровому, так и к факультативному типу развития, а генотипы – рецессивные гомозиготы по этим трем генам будут иметь озимый тип развития (Pugsley, 1971; Stelmakh, 1987; Guo et al., 2015).

Среди яровых форм мягкой пшеницы наибольшее распространение получили доминантные аллели *Vrn-A1a*, *Vrn-A1b*, *Vrn-B1a* и *Vrn-D1a*. При этом их встречаемость зависит от географических регионов: в отечественных и Европейских сортах распространены доминантные аллели *Vrn-A1* и *Vrn-B1* (Shcherban et al., 2015; Berezhnaya et al., 2021), в Канадских сортах яровой пшеницы распространены доминантные аллели гена *Vrn-A1* (Iqbal et al., 2007), среди генотипов из Китая часто встречается доминантный *Vrn-D1* (Zhang et al., 2008). У твердой пшеницы широко встречается *Vrn-A1c* (Fu et al., 2005), а в российских и украинских сортах часто присутствует *Vrn-B1c* (Muterko et al., 2016 b). У образцов СГП могут встречаться аллели, характерные для твердой пшеницы *T. durum* (аллели генов *Vrn-A1* и *Vrn-B1*) и *Ae. tauschii* (аллели гена *Vrn-D1*) – видов, при участии которых получена СГП. Для детекции аллелей генов *Vrn-A1*, *Vrn-B1* и *Vrn-D1* используют ДНК-маркеры (Yan et al., 2004; Fu et al., 2005; Zhang et al., 2012; Muterko et al., 2016 a; Guo et al., 2015).

Реакция растений на продолжительность светового дня – один из основных признаков, влияющих на длительность периода всходы-колошение. Для перехода к колошению МП

необходим длинный световой день (более 10 часов). В случае выращивания пшеницы в условиях короткого фотопериода показана задержка в ее развитии до стадии колошения на 60-200 дней (Worland et al., 1994). У МП реакция на фотопериод определяется генами *Ppd-A1*, *Ppd-B1* и *Ppd-D1*, которые относятся к семейству генов *PRR* (Pseudo Response Regulator), отвечающих у *Arabidopsis* за регуляцию циркадных ритмов (Turner et al., 2005; Beales et al., 2007). Данные гены локализованы в хромосомах второй гомеологической группы (Scarth, Law, 1984; Beales et al., 2007).

Из названных генов у МП основным по силе является *Ppd-D1*, рецессивный аллель которого *ppd-D1b* контролирует чувствительность к длине светового дня (Worland., 1998; Beales et al., 2007). Доминантный (интактный) аллель *Ppd-D1a*, ассоциированный с нейтральной реакцией на фотопериод, отличается от рецессивного аллеля *ppd-D1b* наличием в 5'-нетранслируемом участке (UTR) делеции 2089 п.о. (Beales et al., 2007).

Большинство сортов МП, возделываемых в южных широтах, нечувствительны к фотопериоду (Hunt, 1979; Worland., 1998; Iqbal et al., 2010; Gomez et al., 2014), в том числе к ним относятся многие полуозимые и факультативные сорта из Восточной Азии (Chen et al., 2013). В свою очередь, адаптированные к длинному световому дню сорта распространены в северных и умеренных широтах (Hunt, 1979; Worland., 1998; Shcherban et al., 2015; Likhenko et al., 2015; Berezhnaya et al., 2021).

У образцов *Ae. tauschii*, участвовавших в создании СГП, в 5'-UTR области гена *Ppd-D1* отсутствует делеция 2089 п.о. (что соответствует аллелю *ppd-D1b*), однако в этом же участке распространены небольшие делеции в 24 и 15 п.н. В связи с этим у *Ae. tauschii* выделяют три аллеля гена *Ppd-D1* (Huang et al., 2012), которые мы для удобства будем обозначать как аллель с индексом, соответствующим размеру ПЦР-продукта (например, *ppd-D1b'*₄₁₄):

- аллель *ppd-D1b'*₄₅₃ – без делеций, размер ПЦР-фрагмента, сгенерированного праймерами *Ppd-D1_F* и *Ppd-D1_R1* будет 453 п.н.,
- *ppd-D1b'*₄₂₉ – с делецией 24 п.н. и размером ПЦР-продукта 429 п.о.,
- *ppd-D1b'*₄₁₄ – с двумя делециями 24 и 15 п.н., в данном случае размер продукта будет аналогичен таковому для мягкой пшеницы – 414 п.н.

По срокам, необходимым для колошения, наименьшее время требуется генотипам *Ae. tauschii* с аллелем *ppd-D1b'*₄₅₃ (177,06±0,93 дня), а в случае аллелей *ppd-D1b'*₄₂₉ и *ppd-D1b'*₄₁₄ колошение наступает на несколько дней позже (181,88±1,63 и 183,45±1,19, соответственно) (Huang et al., 2012).

Разнообразие аллелей генов *Vrn1* и гена *Ppd-D1* у 78 генотипов гексаплоидной пшеницы. Молекулярный скрининг выборки из 78 генотипов, различающихся по скрещиваемости с рожью, проводили с привлечением ДНК-маркеров (приложение 5). Анализировали наличие следующих аллелей генов *Vrn1* и *Ppd-D1*:

- *Vrn-A1*: аллели *Vrn-A1a*, *Vrn-A1b*, *Vrn-A1c*, а также аллель дикого типа *vrn-A1*
- *Vrn-B1*: аллели *Vrn-B1a*, *Vrn-B1b*, *Vrn-B1c*, а также аллель дикого типа *vrn-B1*
- *Vrn-D1*: аллели *Vrn-D1a*, *Vrn-D1b*, а также аллель дикого типа *vrn-D1*
- *Ppd-D1*: аллели *Ppd-D1a*, *ppd-D1b'*₄₁₄, *ppd-D1b'*₄₂₉ и *ppd-D1b'*₄₅₃

В результате скрининга выявлено значительное разнообразие исследованных генотипов по комбинациям аллелей генов (таблица 3.5.3).

Из выявленных 17 различных комбинаций аллелей генов *Vrn1* и *Ppd-D1* наиболее часто встречалась **комбинация №1** (*vrn-A1/vrn-B1/vrn-D1/ppd-D1b'*₄₁₄). Она обнаружена у 29 генотипов МП, отобранных из китайских образцов, а также нескольких образцов, представляющих сорта США и стран Европы. Следует отметить, что 18 растений (генотипов), имеющих эту комбинацию аллелей генов, были, как и ожидали, озимого типа, а 11 – ярового. Эти растения преимущественно были отобраны из образцов стародавней МП из Пакистана и Индии. Возможно, яровой тип развития у них обусловлен другими аллелями генов *Vrn1*, либо другими генами семейства *Vrn*.

Комбинация №2 (*vrn-A1/vrn-B1/vrn-D1/Ppd-D1a*) выявлена у семи генотипов МП, преимущественно из Китая (и один образец из России), имеющих озимый тип развития (таблица 3.5.3). В генотипах наряду с тремя рецессивными аллелями генов *Vrn1* присутствовал аллель фотопериодической нечувствительности *Ppd-D1a*.

Комбинация №3 (*Vrn-A1c/vrn-B1/vrn-D1/ppd-D1b'*₄₅₃) была выявлена только у СГП. У изученных генотипов МП аллели *Vrn-A1c* и *ppd-D1b'*₄₅₃, ассоциированные по данным литературы с яровым типом развития и чувствительностью к длине светового дня, нами не обнаружены. **Комбинация №11** (*Vrn-A1c/vrn-B1/vrn-D1/ppd-D1b'*₄₂₉), отличающаяся от комбинации №3 присутствием другого аллеля гена *Ppd-D1*, также была найдена лишь у СГП.

Комбинация №4 (*Vrn-A1a/vrn-B1/vrn-D1/ppd-D1b'*₄₁₄) была общей для МП и СГП, при этом все растения с этой комбинацией аллелей генов имели яровой тип развития и были отобраны из образцов разных стран.

Комбинации №5 (*vrn-A1/vrn-B1/Vrn-D1a/ppd-D1b'*₄₁₄) и **№13** (*vrn-A1/vrn-B1/Vrn-D1a/Ppd-D1a*) были с доминантным аллелем *Vrn-D1a*, но различались по аллелям гена *Ppd-D1a*.

Комбинации №6 (*vrn-A1/vrn-B1/Vrn-D1b/Ppd-D1a*) и **№10** (*vrn-A1/vrn-B1/Vrn-D1b/ppd-D1b'*₄₁₄) содержали доминантный аллель *Vrn-D1b* и также различались по наличию аллеля *Ppd-D1a*. В отличие от вышеописанных комбинаций №5 и №13, комбинации №6 и №10 имели генотипы, представленные растениями с озимым типом развития, а не с яровым. Они также были отобраны из образцов Китая. Как известно, наличие аллеля *Vrn-D1b* может обеспечивать факультативный или полуозимый тип развития (Guo et al., 2015).

Таблица 3.5.3 – Разнообразие генотипов эталонной коллекции по скрещиваемости пшеницы с рожью по составу аллелей генов *Vrn1* и *Ppd-D1*

Выявленная комбинация аллелей (жирным выделены доминантные аллели)	Распределение генотипов с выявленной комбинацией аллелей по таксономической принадлежности, типу развития и стране происхождения
№1 – <i>vrn-A1/vrn-B1/vrn-D1/ppd-D1b'</i> ₄₁₄	МП (N = 29) Озимая (18): CHN (13), CSK (1), GBR (1), UKR (1), USA (2) Яровая (11): PAK (6), IND (3), AFG (1), CHN (1)
№2 – <i>vrn-A1/vrn-B1/vrn-D1/Ppd-D1a</i>	МП (N = 7) Озимая (7): CHN (6), RUS (1)
№3 – <i>Vrn-A1c</i> / <i>vrn-B1/vrn-D1/ppd-D1b'</i> ₄₅₃	СПП (N = 6) Яровая (6)
№4 – <i>Vrn-A1a</i> / <i>vrn-B1/vrn-D1/ppd-D1b'</i> ₄₁₄	МП (N = 4) Яровая (4): BLR (1), BRA (1), MNG (1), RUS (1) СПП (N = 1) Яровая (1)
№5 – <i>vrn-A1/vrn-B1/Vrn-D1a/ppd-D1b'</i> ₄₁₄	МП (N = 5) Яровая (5): CHN (3), MNG (1), PAK (1)
№6 – <i>vrn-A1/vrn-B1/Vrn-D1b/Ppd-D1a</i>	МП (N = 5) Озимая (5): CHN (4), JPN (1)
№7 – <i>Vrn-A1a/Vrn-B1a</i> / <i>vrn-D1/ppd-D1b'</i> ₄₁₄	МП (N = 4) Яровая (4): RUS (2), CAN (1), USA (1)
№8 – <i>Vrn-A1a/Vrn-B1c</i> / <i>vrn-D1/ppd-D1b'</i> ₄₁₄	МП (N = 3) Яровая (3): CAN (1), MNG (1), RUS (1)
№9 – <i>Vrn-A1a/Vrn-B1a</i> / <i>vrn-D1/Ppd-D1a</i>	МП (N = 2) Яровая (2): CHN (2)
№10 – <i>vrn-A1/vrn-B1/Vrn-D1b/ppd-D1b'</i> ₄₁₄	МП (N = 2) Озимая (2): CHN (2)
№11 – <i>Vrn-A1c</i> / <i>vrn-B1/vrn-D1/ppd-D1b'</i> ₄₂₉	СПП (N = 2) Яровая (2)
№12 – <i>Vrn-A1b</i> / <i>vrn-B1/vrn-D1/ppd-D1b'</i> ₄₁₄	МП (N = 2) Озимая (1): FRA (1) Яровая (1): PAK (1)
№13 – <i>vrn-A1/vrn-B1/Vrn-D1a/Ppd-D1a</i>	МП (N = 2) Яровая (2): CHN (1), JPN (1)
№14 – <i>vrn-A1/Vrn-B1a/vrn-D1/Ppd-D1a</i>	МП (N = 1) Факультативная (1): CHN (1)
№15 – <i>vrn-A1/Vrn-B1a/vrn-D1/ppd-D1b'</i> ₄₁₄	МП (N = 1) Яровая (1): CHN (1)
№16 – <i>Vrn-A1a</i> / <i>vrn-B1/Vrn-D1a/ppd-D1b'</i> ₄₁₄	МП (N = 1) Яровая (1): USA (1)
№17 – <i>Vrn-A1b/Vrn-B1a</i> / <i>vrn-D1/ppd-D1b'</i> ₄₁₄	МП (N = 1) Яровая (1): ARG (1)

Комбинация №12 (*Vrn-A1b/vrn-B1/vrn-D1/ppd-D1b'*₄₁₄) выявлена у двух генотипов, отобранных из образцов Пакистана (Moro of Sind (p.1)) и Франции (Courtot (p.1)), ярового и озимого типа развития, соответственно. Интерес представляет второй генотип с доминантным аллелем гена *Vrn-A1*. Мы дополнительно изучили два других растения этого образца, все они оказались с доминантным аллелем *Vrn-A1b*, хотя растения имели озимый тип развития. Выявленный нами ампликон в агарозном геле, хотя и имел сходную подвижность с маркерным

фрагментом аллеля *Vrn-A1b*, в действительности мог содержать дополнительные SNP или небольшие индели.

Комбинации №14 (*vrn-A1/Vrn-B1a/vrn-D1/Ppd-D1a*) и №15 (*vrn-A1/Vrn-B1a/vrn-D1/ppd-D1b'414*) характеризовались наличием доминантного аллеля *Vrn-B1a* и рецессивных аллелей остальных генов *Vrn1*. Отличались данные комбинации по аллелям гена *Ppd-D1*. Эти комбинации выявлены у растений двух образцов из Китая, одно из них имело факультативный тип развития.

Остальные комбинации (№7-9, 16, 17) были с двумя доминантными аллелями генов *Vrn1* (таблица 3.5.3). Они характерны для яровых генотипов МП, происхождением из самых разных стран, реже Китая.

Таким образом, 78 генотипов, включенных в эталонную коллекцию, оказались разнообразными по аллельному составу генов *Vrn1* и гена *Ppd-D1*. Наиболее часто встречалась комбинация *vrn-A1/vrn-B1/vrn-D1/ppd-D1b'414*, характерная для озимой МП, но выявленная также и у части генотипов с яровым типом развития. Напротив, растения с генотипами, несущими доминантные аллели генов *Vrn-A1*, *Vrn-B1* или *Vrn-D1*, в большинстве случаев (за исключением комбинаций с аллелем *Vrn-D1b*) имели яровой тип развития. У СГП преобладали специфические комбинации аллелей *Vrn-A1c*, *ppd-D1b'429* и *ppd-D1b'453*.

3.5.5 Структура генетического разнообразия эталонной коллекции по скрещиваемости пшеницы с рожью и информация о ней

С целью визуализации структуры генетического разнообразия эталонной коллекции, мы решили провести кластерный анализ включенных в нее генотипов по аллельному составу всех изученных нами локусов, а также выявленных аллелей генов. Кластерный анализ проводили, опираясь на данные по аллельному составу:

- семи локусов, расположенных вблизи гена *SKr* (*cfb341*, *cfb382*, *TGlc2*, *gene12*, *gene13*, *Xvir1*, *Xvir3*)
- пяти локусов, расположенных вблизи гена *Kr1* (*Xgwm213*, *Xvir9*, *Xvir10*, *Xvir12*, *Xvir14*)
- генов *Rht-B1*, *Rht-D1*, *Vrn-A1*, *Vrn-B1*, *Vrn-D1* и *Ppd-D1*.

На построенной дендрограмме (рисунок 3.5.8) видно, что различающиеся по скрещиваемости с рожью генотипы образуют два основных кластера.

Кластер 1 объединял практически все генотипы (48 из 51) с высокой скрещиваемостью. В его состав вошло большинство генотипов МП из Китая, а также других стран Азии. В состав кластера входят кластеры меньшего порядка:

- **субкластер 1.1** – наиболее разнообразный по представленности генотипов различного происхождения. Он включал практически все генотипы из Китая, ряд генотипов, заложенных от

сортов МП из Европы, и стран Нового света, а также большинство (7 из 9) генотипов СГП. В субкластере 1.1 мы выделили две субветви:

- **субветвь 1.1a** была представлена генотипами, принадлежащими образцам из Китая, Монголии, Афганистана с высокой скрещиваемостью, а также из Пакистана – с низкой скрещиваемостью. Важно отметить, что по сравнению с кластером по SSR-локусам (рисунок 3.5.3) здесь не было СГП, а также генотипа *Maris Hobbitt* из Великобритании.

- **субветвь 1.1b**, объединившая оставшиеся генотипы из Китая и генотипы из Европы и стран Нового света (рисунок 3.5.8). Генотипы СГП (всего семь) кластеризовались на этой ветви отдельно от МП. На ранее построенной нами дендрограмме (рисунок 3.5.3) СГП группировались то же отдельно от МП, но были разбиты на более мелкие группы по два-три генотипа.

- **субкластер 1.2** объединил генотипы происхождением исключительно из Пакистана и Индии – двух географически и исторически близких регионов Азии. На дендрограмме, построенной на основе анализа аллелей только SSR-локусов (рисунок 3.5.3), генотипы из этих стран также группировались вместе, но там на отдельной ветви субкластера 1.2 их было семь, а не девять (рисунок 3.5.8).

Кластер 2 состоял преимущественно из несовместимых с рожью генотипов (9 из 12), которые имели происхождение из стран Европы и Нового света, а также Монголии и Южной Сибири.

Большинство генотипов пшеницы имели свои уникальные аллельные профили (рисунок 3.5.8). Но, как и в прошлый раз (см. раздел 3.5.3, рисунок 3.5.3), исключение составили четыре генотипа, отобранные из стародавних образцов МП из Пакистана: к-5158 *Bushak*, к-23806 *Punjab Tіre 8a*, к-14958 *8A*, к-14960 *8B*. Из них генотип *Bushak* (р.2) был с низкой скрещиваемостью с рожью, а остальные – с высокой. Образцы, из которых отобраны эти генотипы, были собраны экспедициями ВИР в 1922-1928 гг. и имели близкие ботанические разновидности *turcicum* (Koern.) Mansf. и *pseudoturcicum* (Vav.) Mansf., сложно отличимые морфологически. Не исключено, что они могут иметь общее происхождение.

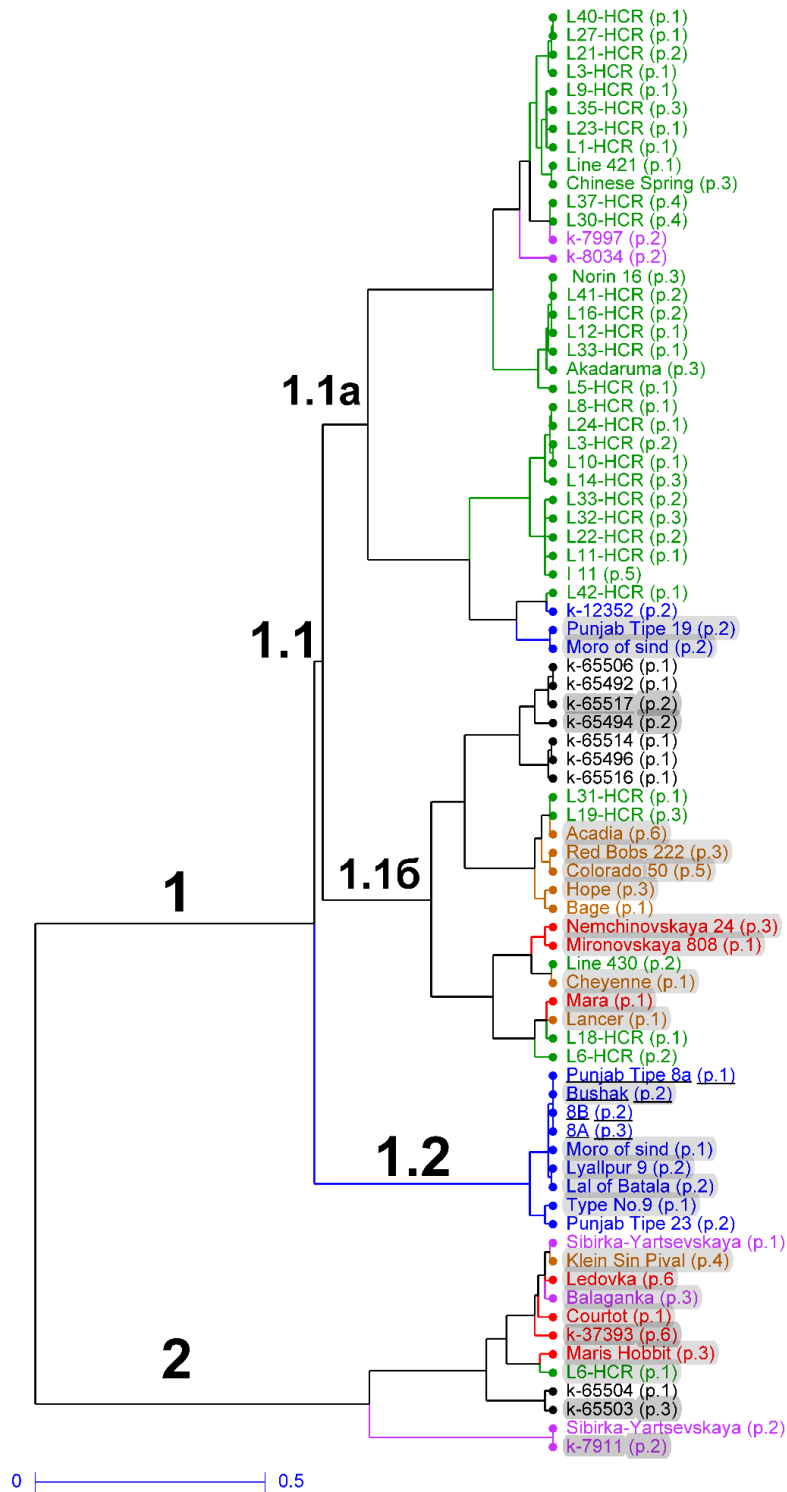


Рисунок 3.5.8 – Распределение 78 генотипов эталонной коллекции на дендрограмме, построенной по аллельному составу локусов, расположенных рядом с генами *SKr* и *KrI*, а также по аллелям генов *Rht-B1*, *Rht-D1*, *Vrn1* и гена *Ppd-D1*. 1 и 2 – кластеры, 1.1 и 1.2 – субкластеры, 1.1a и 1.1b – субветви. Генотипы пшеницы выделены различными цветами в зависимости от их происхождения и таксона: красным – Европа, зеленым – Восточная Азия (Китай и Япония), синим – Южная Азия (Афганистан, Пакистан, Индия), розовым – Монголия и Южная Сибирь (Красноярский край и Иркутская область), коричневым – страны Нового Света, черным – СГП. Серой заливкой отмечены генотипы с низкой скрещиваемостью с рожью. Подчеркнуты генотипы, имеющие одинаковые аллельные профили.

Таким образом, в результате кластерного анализа была описана генетическая структура 78 генотипов эталонной (референсной) коллекции, сформированной по признаку скрещиваемости пшеницы с рожью. Генотипы образовали группы по географическому происхождению, их таксономической принадлежности (МП или СГП), а также по скрещиваемости с рожью. На основе комплексного анализа генотипов, учета разнообразия аллельного состава всех локусов, расположенных вблизи генов *SKr* и *Kr1*, а также аллелей генов *Rht-B1*, *Rht-D1*, *Vrn1* и *Ppd-D1*, генотипы точнее объединялись в группы по их географическому происхождению и таксономической принадлежности, чем при учете аллельного состава только SSR-локусов. Это связано, по-видимому, с прямым участием генов *Vrn1* и гена *Ppd-D1* в адаптации пшеницы к различным эколого-географическим и климатическим условиям выращивания пшеницы.

Базы данных о 78 растениях (генотипах) эталонной коллекции

Чтобы сохранить полученные нами данные о 78 растениях (генотипах), вошедших в состав эталонной коллекции гексаплоидной пшеницы, а также сведения об образцах коллекции ВИР, из которых они были отобраны, обеспечить целостность и доступность информации нами созданы паспортная (приложение 7) и оценочные (приложения 10 и 11) базы данных (БД).

Паспортная БД содержит 78 записей об образцах коллекции ВИР, из которых были отобраны растения (генотипы). Она имеет девять полей (№ по каталогу ВИР; Название линии, состоящее из сокращенного обозначения уровня скрещиваемости пшеницы с рожью НСПР – низкая и ВСПР – высокая скрещиваемость пшеницы с рожью и порядкового номера будущей линии (27 и 51 линия, соответственно); Таксон; Название образца, из которого было отобрано растение (генотип); Страна происхождения образца; Разновидность; Год включения в коллекцию ВИР; Тип развития; Статус).

Первая оценочная БД имеет 78 записей о генотипах эталонной коллекции (приложение 10). Она содержит информацию об аллельном составе локусов, расположенных вблизи генов *SKr* и *Kr1*. БД включает 18 полей (Название линии; Название генотипов, отобранных для закладки линий; Скрещиваемость с рожью (в %); № исходного образца по каталогу ВИР; Происхождение; Выявленные аллели локусов (13 полей); Хромосома 5BS (8 полей); Локусы, сцепленные с *SKr* (5 полей); *cfb341*; *gene12*; *TGlc2*; *gene13*; Гаплотип; *cfb382*; *Xvir1*; *Xvir3*; Хромосома 5BL (пять полей); *Xvir9*; *Xvir10*; *Xgwm213*; *Xvir12*; *Xvir14*).

Вторая оценочная БД (приложение 11), содержит информацию об аллельном составе генов *Rht-B1*, *Rht-D1*, *Vrn1* и *Ppd-D1*. БД включает 12 полей (Название линии; Название генотипов, отобранных для закладки линий; Скрещиваемость с рожью (в %); № исходного образца по каталогу ВИР; Происхождение; Тип развития; *Rht-B1*; *Rht-D1*; *Vrn-A1*; *Vrn-B1*; *Vrn-D1*; *Ppd-D1*).

Таким образом, для каждого генотипа приведены данные об аллельном составе изученных у них локусов, расположенных вблизи генов *SKr* и *Kr1* (приложение 10), и об аллельном составе

генов (*Rht-B1*, *Rht-D1*, *Vrn1*, *Ppd-D1*) трех хозяйственно-ценных признаков (приложение 11). Использование этих баз данных позволит целенаправленно отбирать материал для решения тех или иных научных или селекционных задач, а также даст возможность сохранить подлинность каждого генотипа (линии) при репродуцировании семян, поскольку генотип растения имеет свой уникальный маркерный профиль (за исключением четырех генотипов стародавней МП из Пакистана).

Заключение по разделу 3.5

В результате проведенных исследований нами отобрано 78 растений МП и СГП (генотипов) и проведен их комплексный анализ:

- каждое растение фенотипировано по скрещиваемости с рожью;
- все 78 генотипов охарактеризованы по аллельному составу локусов, расположенных вблизи генов *SKr* и *Kr1* – основных по силе генов, контролирующих скрещиваемость МП с рожью. Для аллелей ряда локусов выявлена достоверная ассоциация аллель-высокая/низкая скрещиваемость с рожью, что доказывает их близкое расположение к целевым генам;
- дополнительно, прежде всего с целью надежной паспортизации генотипов, а также использования их в качестве доноров аллелей других селекционно-ценных признаков, проведено их изучение по аллельному составу генов *Rht-B1*, *Rht-D1*, контролирующих высоту растения пшеницы, генов *Vrn1*, обуславливающих тип развития, и гена *Ppd-D1*, участвующего в определении фотопериодической чувствительности.

От каждого из изученных 78 растений (генотипов), семена которых сохранены, будут заложены линии. Кроме того, имеются препараты ДНК каждого растения (генотипа), сохраняющиеся в лаборатории молекулярной селекции и ДНК паспортизации ВИР им. Н. И. Вавилова.

Таким образом, создана основа эталонной коллекции по признаку скрещиваемости пшеницы с рожью.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для обогащения генофонда МП издавна используют культурную рожь, как ценный источник аллелей генов различных признаков. Однако возможности широкой интрогрессии генетического материала ржи ограничены, прежде всего, барьерами репродуктивной изоляции, приводящими к низкой скрещиваемости МП с рожью. Чтобы создать широкую базу исходного растительного материала для проведения фундаментальных и прикладных исследований по этой проблеме мы решили применить молекулярно-генетические подходы для поиска и характеристики образцов мягкой пшеницы и созданной человеком синтетической гексаплоидной пшеницы, проявляющих высокую скрещиваемость с рожью. Основное внимание уделили апробации известных и разработке новых ДНК-маркеров для участков локализации генов *SKr* и *Kr1* (в коротком и длинном плечах хромосомы 5В, соответственно), оценкам ассоциации аллелей маркерных локусов с признаком скрещиваемости с рожью и диагностической эффективности ДНК-маркеров, характеристике их аллельного разнообразия, поиску генов кандидатов на роль супрессора скрещиваемости *SKr* и гена *Kr1*, а также формированию и комплексному анализу эталонной (референсной) коллекции по рассматриваемому признаку.

Благодаря проведенному анализу литературы и собственной оценке признака в коллекции ВИР удалось выявить 105 образцов МП и 27 СГП, различающихся по скрещиваемости с рожью. Проверка растений (генотипов), отобранных из каждого образца, путем опыления кастрированных колосьев пылью диплоидной ржи, в большинстве случаев подтвердила данные литературы, а апробация на них существующих ДНК-маркеров (*cfb341*, *gene12*, *TGlc2* и *gene13*), сцепленных с геном супрессором скрещиваемости *SKr* – основным по силе геном, контролирующим этот признак, показала, что аллели трех первых из перечисленных маркерных локусов у МП можно классифицировать как диагностически эффективные в выявлении генотипов с высокой/низкой скрещиваемостью, а у СГП – как неэффективные. При этом диагностическая эффективность, т.е. процент генотипов у МП с правильной ассоциацией аллель-признак достигал примерно 75%. Чтобы повысить процент выявления таких ассоциаций, мы решили разработать дополнительные ДНК-маркеры не только для *SKr*, но и для гена *Kr1*, который также может вносить существенный вклад в контроль скрещиваемости МП с рожью. Для этого сначала в референсном геноме CS (Refseq v2.1) установили физические участки локализации генов *SKr* и *Kr1*, используя данные об их генетическом картировании. Из большого числа выявленных на участках локализации этих генов микросателлитных локусов по разным объективным причинам в качестве маркеров мы использовали два SSR-локуса для участка с локализацией гена *SKr* и четыре – для *Kr1*. В конечном итоге, для *SKr* разработан новый SSR-маркер *Xvir1*, аллели которого с такой же диагностической эффективностью, как и аллели ДНК-

маркеров *cfb341*, *gene12* и *TGlc2*, выявляют растения (генотипы) с высокой/низкой скрещиваемостью с рожью, что было показано на отдельной выборке из 69 растений (генотипов) МП. По-видимому, при наличии четырёх ДНК-маркеров, имеющих примерно одинаковую эффективность, вести дальнейший поиск ДНК-маркеров, близко расположенных к гену *SKr* уже не целесообразно. Для участка с геном *Kr1* впервые нами разработаны два диагностических эффективных SSR-маркера – *Xvir9* и *Xvir10*, однако процент генотипов с правильным соотношением аллель признак при их использовании был несколько ниже (66,7-72,5%), чем в случае с геном *SKr*. Малое количество диагностических эффективных ДНК-маркеров на участке локализации гена *Kr1*, а также различия их по эффективности, свидетельствует о возможности разработки более результативных маркеров. Кроме того, следует обратить внимание и на другие гены и локусы, участвующие в контроле скрещиваемости МП с рожью, например, *Crossability region 2*, *Kr2*, *Kr3*, *Kr4*, локус на хромосоме 7A. Как показали наши исследования, учет одновременно аллелей маркерных локусов на обоих участках локализации генов *SKr* и *Kr1* позволил выявить аллельные комбинации, встречающиеся исключительно у генотипов МП с высокой скрещиваемостью.

Особого внимания заслуживает факт выявления редких и уникальных аллелей маркерных локусов *cfb341*, *gene12*, *TGlc2* и *gene13*. Он свидетельствует не только о генетическом разнообразии изученных растений, но и служит доказательством тому, что в участке локализации генов скрещиваемости происходили мутации. Сначала редкие и уникальные аллели маркерных локусов нами были выявлены при анализе первого набора образцов, а именно: у нескольких растений стародавней пшеницы из Пакистана, Китая и, предположительно, Монголии. Этот факт, а также знание концепции Н. И. Вавилова о наличии первичного очага разнообразия сортовых форм МП в горных районах Юго-Западной Азии побудили нас сформировать и провести скрининг еще одной выборки растений (генотипов), представляющих 108 образцов преимущественно стародавней МП из стран Азии. У растений этой выборки было обнаружено восемь гаплотипов по аллелям названных выше локусов, пять из них были с новыми аллелями. Следует отметить, что растения (генотипы) образцов МП из стран Азии имели как общие комбинации аллелей локусов *cfb341*, *gene12*, *TGlc2* и *gene13* (гаплотипы #1-3), так и специфические (#7-#12) которые не встречались у растений других стран. При этом географическое положение стран происхождения некоторых образцов совпадает с тремя основными путями переноса МП человеком из Западной в Восточную Азию: Южно-Гималайский (через Индию и Пакистан), маршрут коридора Хэси (через Афганистан) и степной маршрут (через Монголию). Возможно, концентрация специфических гаплотипов в странах Центральной, Южной и Восточной Азии – есть результат не только адаптации МП к условиям ее длительного возделывания на их территориях, но и переноса ее человеком. Важно отметить, что

разнообразие растений из 18 провинций Китая (по результатам анализа первого и второго наборов образцов), значительно уже, у них выявлено всего шесть гаплотипов и только один с новым аллелем. Растения, представляющие СГП, по маркерным локусам *cfb341*, *gene12*, *TGlc2* и *gene13* были менее разнообразными, чем МП.

Впервые осуществлен анализ и поиск генов-кандидатов на роль *Kr1* и *SKr*. Показано, что ни одна из опубликованных в литературе последовательностей-кандидатов в результате проведенного BLAST-анализа не имела отношение к гену *Kr1*, ни по функциям, ни по расположению выявленных генов-гомологов. На роль супрессора *SKr* предложен ген S-рецепторной лектиновой протеинкиназы G-типа, которая может участвовать в распознавании пыльцевых трубок. Для верификации этого гена необходимо изучить его полиморфизм на выборке из контрастных по скрещиваемости с рожью генотипов МП, а также провести анализ экспрессии на разных стадиях до и после опыления пестика пшеницы пылью ржи. Важно продолжить поиск генов кандидатов на роль гена *Kr1*. Важно также учитывать и влияние генов других локусов на скрещиваемость с рожью, в частности локуса *Crossability region 2*, расположенного вблизи гена *Kr1*.

Проведенное исследование позволило заложить основу эталонной (референсной) коллекции по признаку скрещиваемости пшеницы с рожью. Она включает 78 растений (генотипов), из которых 69 – МП и 9 – СГП, с высокой и с низкой скрещиваемостью. Они различаются по географическому происхождению и аллельному составу локусов, расположенных рядом с генами *SKr* и *Kr1*, вносящими основной вклад в контроль скрещиваемости МП с рожью. С целью повышения эффективности использования генотипов коллекции при решении различных фундаментальных и селекционных задач, проведен их комплексный анализ, в ходе которого предложена система оригинальных ДНК-маркеров, позволившая идентифицировать аллели генов *Rht-B1* и *Rht-D1*, контролирующих высоту растений пшеницы.

Таким образом в результате выполнения данного исследования нами достигнута основная цель: (1) существенно расширено число источников МП и СГП с высокой скрещиваемостью с рожью (2) апробированы и разработаны ДНК-маркеры, позволяющие ускорить отбор таких генотипов из коллекции ВИР (3) предложен ген-кандидат на роль гена *SKr* (4) сформирована эталонная (референсная) коллекция для продолжения исследований по скрещиваемости пшеницы с рожью.

Для будущих работ по изучению генетического контроля признака скрещиваемости МП с рожью необходимо выяснить природу (идентифицировать) генов, контролирующих этот признак. Это можно сделать с помощью анализа полногеномных ассоциаций (GWAS), который, с одной стороны, позволит выявить геномные участки, вносящие вклад в контроль признака

скрещиваемости МП с рожью, с другой стороны, поможет найти новые, более эффективные ДНК-маркеры для отбора генотипов с высокой/низкой скрещиваемостью с рожью. Еще одним перспективным направлением исследований может выступать секвенирование РНК у генотипов МП, контрастных по скрещиваемости с рожью, которое позволит найти транскрипционно-активные до и после опыления гены.

ВЫВОДЫ

1. На основе анализа литературы и собственной оценки скрещиваемости МП и СГП с рожью в коллекции ВИР выявлено 105 и 27 образцов, соответственно, различающихся по скрещиваемости. У МП растения 57 образцов – с высокой скрещиваемостью (28,8-93,3%), растения 47 образцов – с низкой (0,0-10,0%), а также образец к-69062 Л6-ХСР – гетерогенный по скрещиваемости (0,0-25,0%). У СГП растения 12 образцов отнесены к группе с высокой (25,0-71,0%), а растения 15 образцов – к группе с низкой (0,0-15,0%) скрещиваемостью.

2. Скрининг охарактеризованных по скрещиваемости с рожью растений образцов МП с помощью описанных в литературе ДНК-маркеров, тесно-сцепленных с геном-супрессором скрещиваемости *SKr*, показал высокую диагностическую эффективность (около 75%) аллелей маркерных локусов *cfb341*, *TGlc2* и *gene12* в идентификации генотипов МП с высокой/низкой скрещиваемостью с рожью. В случае СГП аллели данных маркерных локусов не имели статистически значимой корреляции с признаком.

3. Наиболее разнообразными по аллелям маркерных локусов *cfb341*, *gene12*, *TGlc2* и *gene13*, сцепленных с геном *SKr*, были генотипы растений, отобранных из сортов стародавней МП из Пакистана, Индии и Монголии. Всего у МП из этих стран обнаружено семь различных комбинаций аллелей (гаплотипов) названных локусов, четыре из них были с новыми аллелями. Разнообразие растений образцов стародавней пшеницы из 18 провинций Китая, по суммарным результатам анализа, было значительно меньше, у них выявлено шесть гаплотипов, при этом только один с новым аллелем локуса. Изученные генотипы СГП характеризовались меньшим аллельным разнообразием, имели всего четыре гаплотипа, три из них были общими с МП.

4. Разработано шесть SSR-маркеров для участков локализации генов *SKr* (*Xvir1*, *Xvir3*) и *Kr1* (*Xvir9*, *Xvir10*, *Xvir12*, *Xvir14*). Из них при анализе выборки из 78 генотипов гексаплоидной пшеницы наиболее полиморфными были SSR-локусы *Xvir1* ($PIC = 0,60$; $Ne = 2,5$), *Xvir12* ($PIC = 0,84$; $Ne = 6,3$) и *Xvir14* ($PIC = 0,86$; $Ne = 7,1$), а ассоциированными с признаком скрещиваемости МП с рожью *Xvir1*, *Xvir9* и *Xvir10*. При этом *Xvir9* и *Xvir10* – это первые маркерные локусы, физически близко расположенные к гену *Kr1*.

5. Совместный анализ аллельного состава шести маркерных локусов *cfb341*, *gene12*, *TGlc2*, *Xvir1*, *Xvir9* и *Xvir10*, ассоциированных с генами *SKr* и *Kr1*, позволил выделить распространенные в выборке аллельные комбинации, не встречающиеся у генотипов с низкой скрещиваемостью с рожью. В кластерном анализе генотипы с высокой/низкой скрещиваемостью имели тенденцию к образованию отдельных групп, в пределах которых они объединялись в зависимости от географического происхождения.

6. Проведенный анализ *in silico* опубликованных последовательностей (DEF, TaDEF, частичная кДНК гена *Kr1*, полная последовательность ДНК гена *Kr1*), которые в литературе имеют отношение к гену *Kr1* показал, что ни одна из них не связана с этим геном ни по функциям выявленных у генов-гомологов, ни по их локализации в геноме МП.

7. На роль супрессора *SKr* предложен ген, кодирующий фермент, гомологичный S-рецепторной лектиновой протеинкиназе G-типа (TraesLAC5B03G02744180), которая может участвовать в распознавании пыльцевых трубок.

8. По результатам проведенных исследований сформирована эталонная (референсная) коллекция по признаку скрещиваемости пшеницы с рожью. В ней представлены изученные растения (генотипы), отобранные из 78 образцов гексаплоидной пшеницы (69 – МП, 9 – СГП), происходящих из 18 стран мира. Из них 51 – с высокой скрещиваемостью (25,0-93,8%) и 27 – с низкой (0,0-9,1%). По маркерным локусам *cfb341*, *gene12*, *TGlc2* и *gene13*, сцепленным с геном *SKr*, у них выявлено 10 гаплотипов, из них пять – с редкими аллелями. Генотипы различаются также по аллелям восьми SSR-локусов, расположенных на участках локализации генов *SKr* (*Xvir1*, *Xvir3* и *cfb382*) и *Kr1* (*Xvir9*, *Xvir10*, *Xvir12*, *Xvir14* и *Xgwm213*). В итоге 74 из 78 генотипов имеют уникальные SSR-профили.

9. Предложена система оригинальных ДНК-маркеров для идентификации аллелей генов *Rht-B1* (аллели *Rht-B1b*, *Rht-B1c*, *Rht-B1p*, *Rht-B1h*, *Rht-B1i-1*) и *Rht-D1* (*Rht-D1b*), контролирующих высоту растения пшеницы. С использованием этой системы маркеров, а также ДНК-маркеров аллелей генов, ответственных за тип развития растения пшеницы (гены *Vrn-A1*, *Vrn-B1*, *Vrn-D1*) и фотопериодическую чувствительность (*Ppd-D1*), проведен комплексный анализ 78 генотипов эталонной коллекции с целью повышения эффективности их практического использования при решении различных научных и селекционных задач.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для сокращения времени и облегчения поиска растений МП, обладающих высокой скрещиваемостью с рожью, может быть рекомендован ДНК-маркер *gene12*, обладающий высокой диагностической эффективностью в 75,2%. Данный маркер применим для анализа в лабораториях с базовым оснащением, поскольку в агарозном геле происходит достоверное разделение продуктов амплификации.

2. Разработанные полиморфные SSR-маркеры *Xvir1*, *Xvir12* и *Xvir14*, специфичные для хромосомы 5В, могут быть использованы для оценки генетического разнообразия выборок МП, а также в работах по генетической паспортизации сортов и линий МП.

3. Для оценки исследовательского растительного материала мягкой пшеницы и характеристики селекционного материала предложена система ДНК-маркеров, в том числе включающая разработанные в данной диссертационной работе ДНК-маркеры, которая позволяет идентифицировать аллели генов *Rht-B1* (*Rht-B1b*, *Rht-B1c*, *Rht-B1p*, *Rht-B1h* и *Rht-B1i-1*) и *Rht-D1* (*Rht-D1b*), ассоциированных с признаком «высота растения» у МП.

**Список опубликованных работ в журналах, рекомендованных ВАК РФ
и индексируемых в базе Scopus**

1. Поротников, И. В. Молекулярные маркеры в генетическом анализе скрещиваемости мягкой пшеницы с рожью / И. В. Поротников, О. Ю. Антонова, О. П. Митрофанова // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2020. – Т. 24. № 6. – С. 557-567. – <https://doi.org/10.18699/VJ20.649>
2. Поротников, И. В. Эффективность молекулярных маркеров гена-супрессора *SKr*, определяющего скрещиваемость мягкой пшеницы с рожью посевной / И. В. Поротников, В. П. Пюккенен, О. Ю. Антонова, О. П. Митрофанова // Экологическая генетика. – 2022. – Т. 20. – № 3. – С. 203-214. – <https://doi.org/10.17816/ecogen110867>
3. Поротников, И. В. Разнообразие стародавней мягкой пшеницы из Азии и синтетической гексаплоидной пшеницы по аллелям маркерных локусов, сцепленных с геном *SKr* – супрессором скрещиваемости мягкой пшеницы с рожью / И. В. Поротников, А. Г. Хакимова, О. Ю. Антонова, О. П. Митрофанова // *Turczaninowia*. – 2025. – Т. 28. – № 3. – С. 30-42. – <https://doi.org/10.14258/turczaninowia.28.3.3>
4. Поротников, И. В. Характеристика полиморфизма в новых SSR-локусах, ассоциированных с признаком скрещиваемости пшеницы с рожью, контролируемым генами *SKr* и *Kr1* / И. В. Поротников, О. Ю. Антонова, О. П. Митрофанова // Биотехнология и селекция растений. – 2026. – Т. 9. – № 3. – С. 15. – <https://doi.org/10.30901/10.30901/2658-6266-2026-3-o85>
5. Porotnikov, I. V. A system of molecular markers to identify alleles of the *Rht-B1* and *Rht-D1* genes controlling reduced height in bread wheat / I. V. Porotnikov, O. P. Mitrofanova, O. Yu. Antonova // *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii* = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. – 2022. – Vol. 26. № 2. – P. 128-138. – <https://doi.org/10.18699/VJGB-22-16>

СПИСОК ЛИТЕРАТУРНЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Алексеев, Я. И. Генетический анализатор для фрагментного анализа ДНК / Я. И. Алексеев, Ю. В. Белов, О. П. Малюченко, Ю. А. Монахова, А. Н. Натыров, В. А. Орехов, С. В. Коновалов, В. Е. Курочкин, А. И. Петров // Научное приборостроение. – 2012. – Т. 22. – № 4. – С. 86-92.
2. Вавилов, Н. И. Центры происхождения культурных растений / Н. И. Вавилов // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. – 1926. – Т. 16. № 2. – С. 5-138
3. Дорохов, Д. Б. Быстрая и экономичная технология RAPD анализа растительных геномов / Д. Б. Дорохов, Э. Клоке // Генетика. – 1997. – Т. 33. – № 4. – С. 443-450.
4. Мережко, А. Ф. Проблема доноров в селекции растений / А. Ф. Мережко. – Санкт-Петербург: ВИР, 1994. – 127 с.
5. Мережко, А. Ф. Эффективный метод опыления зерновых культур: методические указания / А. Ф. Мережко, Л. М. Ерохин, А. Е. Юдин. – Ленинград: ВИР, 1973. – 14 с.
6. Митрофанова, О. П. Генетическая дифференциация гексаплоидной пшеницы по результатам анализа микросателлитных локусов / О. П. Митрофанова, П. П. Стрельченко, А. В. Конарев, А. Бальфорьер // Генетика. – 2009. – Т. 45. № 11. – С. 1351-1359.
7. Писарев, В. Е. Амфидиплоиды «яровая пшеница × яровая рожь» / В. Е. Писарев // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. – 1960. – Т. 32. – № 2. – С. 37-56.
8. Поротников, И. В. Молекулярные маркеры в генетическом анализе скрещиваемости мягкой пшеницы с рожью / И. В. Поротников, О. Ю. Антонова, О. П. Митрофанова // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2020. – Т. 24. № 6. – С. 557-567. – <https://doi.org/10.18699/VJ20.649>
9. Поротников, И. В. Эффективность молекулярных маркеров гена-супрессора *SKr*, определяющего скрещиваемость мягкой пшеницы с рожью посевной / И. В. Поротников, В. П. Пюккенен, О. Ю. Антонова, О. П. Митрофанова // Экологическая генетика. – 2022. – Т. 20. – № 3. – С. 203-214. – <https://doi.org/10.17816/ecogen110867>
10. Поротников, И. В. Разнообразие стародавней мягкой пшеницы из Азии и синтетической гексаплоидной пшеницы по аллелям маркерных локусов, сцепленных с геном *SKr* – супрессором скрещиваемости мягкой пшеницы с рожью / И. В. Поротников, А. Г. Хакимова, О. Ю. Антонова, О. П. Митрофанова // Turczaninowia. – 2025. – Т. 28. – № 3. – С. 30-42. – <https://doi.org/10.14258/turczaninowia.28.3.3>
11. Поротников, И. В. Характеристика полиморфизма в новых SSR-локусах, ассоциированных с признаком скрещиваемости пшеницы с рожью, контролируемым генами *SKr* и *KrI* / И. В. Поротников, О. Ю. Антонова, О. П. Митрофанова //

- Биотехнология и селекция растений. – 2026. – Т. 9. – № 3. – С. 15 – <https://doi.org/10.30901/10.30901/2658-6266-2026-3-08>
12. Пюккенен, В. П. Коллекция мягкой пшеницы по признаку хорошей скрещиваемости с рожью / В. П. Пюккенен // Генетические ресурсы культурных растений в XXI веке: состояние, проблемы, перспективы: тезисы докладов II Вавиловской международной конференции (Санкт-Петербург, 26–30 ноября 2007 г.). – Санкт-Петербург: ВИР, 2007. – С. 583-585.
 13. Рехметулин, Р. М. Скрещиваемость аргентинских сортов яровой мягкой пшеницы с диплоидной и тетраплоидной рожью / Р. М. Рехметулин // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. – 1987. – Т. 111. – С. 77-81.
 14. Рехметулин, Р. М. Использование форм мягкой пшеницы АМ 808 и МА 808 в скрещивании с рожью / Р. М. Рехметулин // Доклады ВАСХНИЛ. – 1988. – Т. 9. – С. 7-10.
 15. Ригин, Б. В. Скрещивание разнохромосомных групп пшеницы и *Triticale* с рожью / Б. В. Ригин // Сборник трудов аспирантов и молодых научных сотрудников. – Ленинград, 1965. – Т. 6. – № 10. – С. 27-35.
 16. Ригин, Б. В. Скрещиваемость пшеницы с рожью / Б. В. Ригин // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. – 1976. – Т. 58. – № 1. – С. 12-34.
 17. Рубец, В. С. Биологические особенности тритикале как основа совершенствования селекционного процесса : дис. ... д-ра биол. наук : 06.01.05 / Рубец Валентина Сергеевна. – Москва, 2016. – 367 с.
 18. Самарина, М. А. Отбор молекулярных маркеров для генетической паспортизации *Triticum aestivum* / М. А. Самарина, Д. С. Ульянов, Т. Д. Мохов, Я. С. Меглицкая, П. Ю. Крупин, Г. И. Карлов, П. Н. Харченко, С. И. Воронов, Н. В. Давыдова, М. Г. Дивашук // Зерновое хозяйство России. – 2024. – Vol. 16. – № 4. – Р. 33-40. – <https://doi.org/10.31367/2079-8725-2024-93-4-33-40>
 19. Суриков, И. М. Наследование хорошей скрещиваемости озимой пшеницы с рожью / И. М. Суриков, Н. И. Киссель // Цитология и генетика. – 1980. – Т. 14. – № 4. – С. 71-73.
 20. Суриков, И. М. Скрещиваемость мягкой пшеницы с диплоидной и тетраплоидной рожью / И. М. Суриков, Н. И. Киссель // Цитология и генетика. – 1985. – Т. 19. – № 1. – С. 40-43.
 21. Суриков, И. М. Скрещиваемость культурного ячменя с мягкой пшеницей / И. М. Суриков, Н. И. Киссель // Цитология и генетика. – 1987. – Т. 21. – № 3. – С. 221-225.
 22. Хакимова, А. Г. Генетическое разнообразие и селекционная ценность синтетической гексаплоидной пшеницы, привлеченной в коллекцию ВИР / А. Г. Хакимова, Н. К. Губарева, В. А. Кошкин, О. П. Митрофанова // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2019. – Т. 23. – № 6. – С. 738-745. – <https://doi.org/10.18699/VJ19.548>

23. Черноок, А. Г. Фенотипическое проявление аллеля низкостебельности *Rht-B1p* (*Rht-17*) у яровой твердой пшеницы в двух климатических условиях / А. Г. Черноок, П. Ю. Крупин, Л. А. Беспалова, В. В. Панченко, В. Я. Ковтуненко, М. С. Баженов, Л. А. Назарова, Г. И. Карлов, А. Ю. Крупина, М. Г. Дивашук // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2019. – Т. 23. № 7. – С. 916-925. – <https://doi.org/10.18699/VJ19.567>
24. Alfares, W. Fine mapping and marker development for the crossability gene *SKr* on chromosome 5BS of hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) / W. Alfares, A. Bouguennec A, F. Balfourier, G. Gay, H. Bergès, S. Vautrin, P. Sourdille, M. Bernard, C. Feuillet // Genetics. – 2009. – Vol. 183. № 2. – P. 469-481. – <https://doi.org/10.1534/genetics.109.107706>
25. Alfares, W. Genetic and molecular analyses of the *SKr* locus involved in the crossability between bread wheat (*Triticum aestivum* L.) and rye (*Secale cereale*) = Analyses génétiques et moléculaires du locus *SKr* impliqué dans l'aptitude du blé (*Triticum aestivum* L.) au croisement avec le seigle (*Secale cereale* L.) : diss. ... cand. sci. / W. Alfares. – Clermont-Ferrand, 2009. – 233 p. – [In French].
26. Areshchenkova, T. Long tomato microsatellites are predominantly associated with centromeric regions / T. Areshchenkova, M. W. Ganai // Genome. – 1999. – Vol. 42. – № 3. – P. 536-544.
27. Backhouse, W. O. Note on the inheritance of “crossability” / W. O. Backhouse // Journal of Genetics. – 1916. – Vol. 6. – № 2. – P. 91-94. – <https://doi.org/10.1007/BF02981869>
28. Balfourier, F. A worldwide bread wheat core collection arrayed in a 384-well plate / F. Balfourier, S. Bouchet, S. Robert, J. De Oliveira, S. Rimbart, J. Kitt, J. Safar, H. Simkova, J. Dolezel, F. Choulet, G. Keeble-Gagnère, J. Tibbits, Rogers J., K. Eversole, R. Appels, M. Mascher, J. Dvorak, M. C. Luo, C. Feuillet // Theoretical and Applied Genetics. – 2019. – Vol. 132. № 3. – P. 807-821. – <https://doi.org/10.1126/sciadv.aav0536>
29. Barkley, N. A. Genetic diversity of cultivated and wild-type peanuts evaluated with M13-tailed SSR markers and sequencing / N. A. Barkley, R. E. Dean, R. N. Pittman, M. L. Wang, C. C. Holbrook, G. A. Pederson // Genetics Research. – 2007. – Vol. 89. – № 2. – P. 93-106. – <https://doi.org/10.1017/s0016672307008695>
30. Bazhenov, M. S. Isolation of the dwarfing *Rht-B1p* (*Rht17*) gene from wheat and the development of an allele-specific PCR marker / M. S. Bazhenov, M. G. Divashuk, Y. Amagai, N. Watanabe, G. I. Karlov // Molecular Breeding. – 2015. – Vol. 35. – № 11. – Art. 211. – <https://doi.org/10.1007/s11032-015-0407-1>
31. Beales, J. A pseudo-response regulator is misexpressed in the photoperiod insensitive *Ppd-D1a* mutant of wheat (*Triticum aestivum* L.) / J. Beales, A. Turner, S. Griffiths, J. W. Snape, D. A. Laurie // Theoretical and Applied Genetics. – 2007. – Vol. 115. – P. 721-733. – <https://doi.org/10.1007/s00122-007-0603-4>

32. Berezhnaya, A. Allelic variation analysis at the vernalization response and photoperiod genes in Russian wheat varieties identified two novel alleles of *Vrn-B3* / A. Berezhnaya, A. Kiseleva, I. Leonova, E. Salina // *Biomolecules*. – 2021. – Vol. 11. № 12. – Art. 1897. – <https://doi.org/10.3390/biom11121897>
33. Berkner, M. O. Trait-customized sampling of core collections from a winter wheat genebank collection supports association studies / M. O. Berkner, Y. Jiang, J. C. Reif, A. W. Schulthess // *Frontiers in Plant Science*. – 2024. – Vol. 15. – Art. 1451749. – <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1451749>
34. Bertin, I. Development of consistently crossable wheat genotypes for alien wheat gene transfer through fine-mapping of the *Kr1* locus / I. Bertin, L. Fish, T. N. Foote, E. Knight, J. Snape, G. Moore // *Theoretical and Applied Genetics*. – 2009. – Vol. 119. – № 8. – P. 1371-1381. – <https://doi.org/10.1007/s00122-009-1141-z>
35. Betts, A. The origins of wheat in China and potential pathways for its introduction: a review / A. Betts, P. W. Jia, J. Dodson // *Quaternary International*. – 2014. – Vol. 348. – P. 158-168. – <https://doi.org/10.1016/j.quaint.2013.07.044>
36. Bhatta, M. Unlocking the novel genetic diversity and population structure of synthetic hexaploid wheat / M. Bhatta, A. Morgounov, V. Belamkar, J. Poland, P. S. Baenziger // *BMC Genomics*. – 2018. – Vol. 19. – Art. 591. – <https://doi.org/10.1186/s12864-018-4969-2>
37. Bouguennec, A. Transfer of recessive *skr* crossability trait into well-adapted French wheat cultivar Barok through marker-assisted backcrossing method / A. Bouguennec, V. S. Lesage, I. Gateau, P. Sourdille, J. Jahier, P. Lonnet // *Cereal Research Communications*. – 2018. – Vol. 46. – № 4. – P. 604-615. – <https://doi.org/10.1556/0806.46.2018.043>
38. Brown, A. H. D. Core collections: a practical approach to genetic resources management / A. H. D. Brown // *Genome*. – 1989b. – Vol. 31. № 2. – P. 818-824. – <https://doi.org/10.1139/g89-144>
39. Brown, A. H. D. The case for core collections / A. H. D. Brown // *The Use of Plant Genetic Resources* / ed.: A. H. D. Brown, O. H. Frankel, D. R. Marshall, J. T. Williams. – Cambridge: Cambridge University Press, 1989a. – P. 136-156.
40. Brown, S. M. Development and application of simple sequence repeat (SSR) loci for plant genome analysis / S. M. Brown, A. K. Szewc-McFadden, S. Kresovich // *Methods of plant genome analysis* / ed. P. P. Jauhar. – New York: CRC Press, 1996. – P. 147-162.
41. Cabral, A. L. Identification of candidate genes, regions and markers for pre-harvest sprouting resistance in wheat (*Triticum aestivum* L.) / A. L. Cabral, M. C. Jordan, C. A. McCartney, F. M. You, D. G. Humphreys, R. MacLachlan, C. J. Pozniak // *BMC Plant Biology*. – 2014. – Vol. 14. – Art. 340. – <https://doi.org/10.1186/s12870-014-0340-1>

42. Cadalen, T. An intervarietal molecular marker map in *Triticum aestivum* L. Em. Thell. and comparison with a map from a wide cross / T. Cadalen, C. Boeuf, S. Bernard, M. Bernard // Theoretical and Applied Genetics. – 1997. – Vol. 94. – № 3/4. – P. 367-377. – <https://doi.org/10.1007/s001220050425>
43. Cai, H. Characterizing the Sequences of *Kr* Gene in Common Wheat / H. Cai, Q. Liu // Triticeae Genomics and Genetics. – 2012. – Vol. 3. – № 4. – P. 38-43. – <https://doi.org/10.5376/tgg.2012.03.0004>.
44. Cai, H. Gene expression and methylation variation in wheat × maize cross / H. Cai, W. Zhao, Z. Xu, W. Jiang, Y. Yao, Y. Zhao // Journal of Nuclear Agricultural Sciences. – 2016a. – Vol. 30. – № 5. – P. 841-849. – [In Chinese].
45. Cai, H. The Differences of Molecular Structure of Dominant *Kr1* and Recessive *kr1* Gene in Common Wheat / H. Cai, W. Zhao, Z. Xu, W. Jiang, Y. Yao, Y. Zhao // Journal of Nuclear Agricultural Sciences. – 2016b. – Vol. 30. – № 5. – P. 841-849. – [In Chinese].
46. Cakmak, I. Role of rye chromosomes in improvement of zinc efficiency in wheat and triticales / I. Cakmak, R. Derici, B. Torun, I. Tolay, H. J. Braun, R. Schlegel // Plant and Soil. – 1997. – Vol. 196. № 2. – P. 249-253. – <https://doi.org/10.1023/A:1004210309876>
47. Chantret, N. Sequencing of the *Triticum monococcum* hardness locus reveals good microcolinearity with rice / N. Chantret, A. Cenci, F. Sabot, O. Anderson, J. Dubcovsky // Molecular genetics and genomics. – 2004. – Vol. 271. № 4. – P. 377-386. – <https://doi.org/10.1007/s00438-004-0991-y>
48. Chen, F. Molecular characterization of vernalization and response genes in bread wheat from the Yellow and Huai Valley of China / F. Chen, M. Gao, J. Zhang, A. Zuo, X. Shang, D. Cui // BMC Plant Biology. – 2013. – Vol. 13. № 1. – Art. 199. – <https://doi.org/10.1186/1471-2229-13-199>
49. Crespo-Herrera, L. A. A systematic review of rye (*Secale cereale* L.) as a source of resistance to pathogens and pests in wheat (*Triticum aestivum* L.) / L. A. Crespo-Herrera, L. Garkava-Gustavsson, I. Åhman // Hereditas. – 2017. – Vol. 154, – Art. 14. – <https://doi.org/10.1186/s41065-017-0033-5>
50. Daunay, A. Low temperature isothermal amplification of microsatellites drastically reduces stutter artifact formation and improves microsatellite instability detection in cancer / A. Daunay, A. Duval, L. G. Baudrin, O. Buhard, V. Renault, J. F. Deleuze, A. How-Kit // Nucleic Acids Research. – 2019. – Vol. 47. № 21. – Art. e141. – <https://doi.org/10.1093/nar/gkz811>
51. Devos, K. M. RFLP-based genetic map of the homoeologous group 3 chromosomes of wheat and rye / K. M. Devos, M. D. Atkinson, C. N. Chinoy, C. J. Liu, M. D. Gale // Theoretical and Applied Genetics. – 1992. – Vol. 83. – № 8. – P. 931-939. – <https://doi.org/10.1007/BF00232953>

52. Devos, K. M. Comparative RFLP maps of the homoeologous group-2 chromosomes of wheat, rye and barley / K. M. Devos, T. Millan, M. D. Gale // Theoretical and Applied Genetics. – 1993. – Vol. 85. – P. 784-792. – <https://doi.org/10.1007/BF00225020>
53. Dice, L. Measures of the amount of ecologic association between species / L. Dice // Ecology. – 1945. – Vol. 26. – № 3. – P. 297-302. – <https://doi.org/10.2307/1932409>
54. Divashuk, M. G. Identity of the *Rht-11* and *Rht-B1e* reduced plant height genes / M. G. Divashuk, A. V. Vasilyev, L. A. Beshpalova, G. I. Karlov // Russian Journal of Genetics. – 2012. – Vol. 48. – № 7. – P. 761-763. – <https://doi.org/10.1134/S1022795412050055>
55. Divashuk, M. G. Reduced height genes and their importance in winter wheat cultivars grown in southern Russia / M. G. Divashuk, L. A. Beshpalova, A. V. Vasilyev, I. A. Fesenko, O. Y. Puzyrnaya, G. I. Karlov // Euphytica. – 2013. – Vol. 190. – № 1. – P. 137-144. – <https://doi.org/10.1007/s10681-012-0789-7>
56. Dubcovsky, J. Genome plasticity a key factor in the success of polyploid wheat under domestication / J. Dubcovsky, J. Dvorak // Science. – 2007. – Vol. 316. № 5833. – P. 1862-1866. – <https://doi.org/10.1126/science.1143986>
57. Ehdaie, B. Root biomass, water-use efficiency, and performance of wheat-rye translocations of chromosomes 1 and 2 in spring bread wheat 'Pavon' / B. Ehdaie, R. W. Whitkus, J. G. Waines // Crop Science. – 2003. – Vol. 43. № 2. – P. 710-717. – <https://doi.org/10.2135/cropsci2003.7100>
58. Ellis, M. H. "Perfect" markers for the *Rht-B1b* and *Rht-D1b* dwarfing genes in wheat / M. H. Ellis, W. Spielmeyer, K. Gale, G. Rebetzke, R. Richards // Theoretical and Applied Genetics. – 2002. – Vol. 105. – № 6/7. – P. 1038-1042. – <https://doi.org/10.1007/s00122-002-1048-4>
59. Estoup, A. Homoplasmy and mutation model at microsatellite loci and their consequences for population genetics analysis / A. Estoup, P. Jarne, J. M. Cornuet // Molecular Ecology. – 2002. – Vol. 11. – № 9. – P. 1591-1604. – <https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.2002.01576.x>
60. Falk, D. Comparison of the crossability of rye (*Secale cereale*) and *Hordeum bulbosum* onto wheat (*Triticum aestivum*) / D. Falk, K. J. Kasha // Canadian Journal of Genetics and Cytology. – 1981. – Vol. 23 – № 1. – P. 81-88. – <https://doi.org/10.1139/g81-010>
61. Falk, D. Genetic studies of the crossability of hexaploid wheat with rye and *Hordeum bulbosum* / D. Falk, K. J. Kasha // Theoretical and Applied Genetics. – 1983. – Vol. 64 –. № 4. – P. 303-307. – <https://doi.org/10.1007/BF00274168>
62. Felix, I. Genetic characterization of storage proteins in a set of F 1-derived haploid lines in bread wheat / I. Felix, J. P. Martinant, M. Bernard, S. Bernard, G. Branlard // Theoretical and Applied Genetics. – 1996. – Vol. 92. – № 3/4. – P. 340-346. – <https://doi.org/10.1007/BF00223677>

63. Frankel, O. H. Genetic perspectives of germplasm conservation / O. H. Frankel // Genetic manipulation: impact on Man and society / ed.: W. K. Arber, K. Illmensee, W. J. Peacock, P. Starlinger. – Cambridge: Cambridge University Press, 1984. – P. 161-170.
64. Fu, D. Large deletions within the first intron in *VRN-1* are associated with spring growth habit in barley and wheat / D. Fu, P. Szűcs, L. Yan, M. Helguera, J. S. Skinner, J. Von Zitzewitz, M Hayes Patrick, J. Dubcovsky // Molecular genetics and genomics. – 2005. – Vol. 273. – № 1. – P. 54-65. – <https://doi.org/10.1007/s00438-004-1095-4>
65. Fu, Y. B. Genome-wide reduction of genetic diversity in wheat breeding / Y. B. Fu, D. J. Somers // Crop Science. – 2009. – Vol. 49. – № 1. – P. 161-168. – <https://doi.org/10.2135/cropsci2008.03.0125>
66. Gardner, K. A. A highly recombined, high-density, eight-founder wheat MAGIC map reveals extensive segregation distortion and genomic locations of introgression segments / K. A. Gardner, L. M. Wittern, I. J. Mackay // Plant Biotechnology Journal. – 2016. – Vol. 14. – № 6. – P. 1406-1417. – <https://doi.org/10.1111/pbi.12504>
67. Gay, G. Production of intervarietal substitution lines with improved interspecific crossability in the wheat cv Courtot. / G. Gay, M. Bernard // Agronomie. – 1994. – Vol. 14. – № 1. – P. 27-32. – <https://doi.org/10.1051/agro:19940103>
68. Gomez, D. Effect of *Vrn1*, *Ppd1* genes and earliness *per se* on heading time in Argentinean bread wheat cultivars / D. Gomez, L. Vanzetti, M. Helguera, L. Lombardo, J. Frascina, D. J. Miralles // Field Crops Research. – 2014. – Vol. 158. – P. 73-81. – <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2013.12.023>
69. Guedira, M. Distribution of *Rht* genes in modern and historic winter wheat cultivars from the Eastern and Central USA / M. Guedira, G. Brown-Guedira, D. Van Sanford, C. Sneller, E. Souza, D. Marshall // Crop Science. – 2010. – Vol. 50. № 5. – P. 1811-1822. – <https://doi.org/10.2135/cropsci2009.10.0626>.
70. Guo, W. J. Consensus features of microsatellite distribution: microsatellite contents are universally correlated with recombination rates and are preferentially depressed by centromeres in multicellular eukaryotic genomes / W. J. Guo, J. Ling, P. Li // Genomics. – 2009. – Vol. 93. – № 4. – P. 323-331. – <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2008.12.009>
71. Guo, X. R. Distribution of the *Vrn-D1b* allele associated with facultative growth habit in Chinese wheat accessions / X. R. Guo, Y. Y. Wang, L. Z. Meng, H. W. Liu, L. Yang, Y. Zhou, H. J. Zhang // Euphytica. – 2015. – Vol. 206. – №1. – P. 1-10. – <https://doi.org/10.1007/s10681-015-1440-1>
72. Hao, C. Genetic diversity in Chinese modern wheat varieties revealed by microsatellite markers / C. Hao, L. Wang, X. Zhang, G. You, Y. Dong, J. Jia, X. Liu, X. Shang, S. Liu, Y. Cao // Science

- in China Series C. – 2006. – Vol. 49. – № 3. – P. 218-226. <https://doi.org/10.1007/s11427-006-0218-z>
73. Hasan, M. N. Genome-wide bioinformatics analysis of the MATE gene family for abiotic stress tolerance in sunflower (*Helianthus annuus* L.) / M. N. Hasan, M. R. Islam, R. Shahrier, M. B. Hossen // PLoS One. – 2026. – Vol. 21. – № 4. – Art. e0346769. – <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0346769>
 74. Hedden, P. The genes of the green revolution / P. Hedden // Trends in Genetics. – 2003. – Vol. 19. № 1. – P. 5-9. – [https://doi.org/10.1016/s0168-9525\(02\)00009-4](https://doi.org/10.1016/s0168-9525(02)00009-4)
 75. Huang, L. Haplotype variations of gene *Ppd-D1* in *Aegilops tauschii* and their implications on wheat origin / L. Huang, Q. Wang, L. Q. Zhang, Z. W. Yuan, J. R. Wang, H. G. Zhang, Y. L. Zheng, D. C. Liu // Genetic Resources and Crop Evolution. – 2012. – Vol. 59. – P. 1027-1032. – <https://doi.org/10.1007/s10722-011-9741-2>
 76. Hunt, L. A. Photoperiodic responses of winter wheats from different climatic regions / L. A. Hunt // Zeitschrift für Pflanzenzüchtung = Journal of Plant Breeding. – 1979. – Vol. 82. № 1. – P. 70-80.
 77. Iqbal, M. Molecular characterization of vernalization response genes in Canadian spring wheat. Genome / M. Iqbal, A. Navabi, R. C. Yang, D. F. Salmon, D. Spaner // Genome. – 2007. – Vol. 50 – № 5. – P. 511-516. – <https://doi.org/10.1139/G07-028>
 78. Iqbal, M. Allelic variation at the *Vrn-A1*, *Vrn-B1*, *Vrn-D1*, *Vrn-B3* and *Ppd-D1a* loci of Pakistani spring wheat cultivars / M. Iqbal, A. Shahzad, I. Ahmed // Electronic Journal of Biotechnology. – 2011. – Vol. 14. № 1. – Art. 6. – <https://doi.org/10.2225/vol14-issue1-fulltext-6>
 79. Jose, J. *Arabidopsis* transmembrane receptor-like kinases (RLKs): a bridge between extracellular signal and intracellular regulatory machinery / J. Jose, S. Ghantasala, S. Roy Choudhury // International Journal of Molecular Sciences. – 2020. – Vol. 21. – № 11. – Art. 4000. – <https://doi.org/10.3390/ijms21114000>
 80. Kachroo, A. Self-incompatibility in the Brassicaceae: receptor–ligand signaling and cell-to-cell communication / A. Kachroo, M. E. Nasrallah, J. B. Nasrallah // The Plant Cell. – 2002. – Vol. 14. – № suppl. 1. – P. 227-238. – <https://doi.org/10.1105/tpc.010440>
 81. Kahiluoto, H. Decline in climate resilience of European wheat / H. Kahiluoto, J. Kaseva, J. Balek, J. E. Olesen, M. Ruiz-Ramos, A. Gobin, K. C. Kersebaum, J. Takáč, P. Ruget, S. Ferrise, P. Bezak, Z. Capellades, J. Dibari, H. Mäkinen, M. Nendel, M. Ventrella, Á. Rodríguez, A. Caldwell, M. Trnka // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2019. – Vol. 116. № 1. – P. 123-128. – <https://doi.org/10.1073/pnas.1804387115>

82. Khlestkina, E. K. Molecular markers in genetic studies and breeding. / E. K. Khlestkina // Russian Journal of Genetics: Applied Research. – 2014. – Vol. 4. – № 3. – P. 236-244. – <https://doi.org/10.1134/S2079059714030022>
83. Krolow, K. D. Untersuchungen über die Kreuzbarkeit zwischen Weizen und Roggen / K. D. Krolow // Zeitschrift für Pflanzenzüchtung. – 1970. – Vol. 64. – № 1/2. – P. 44-72.
84. Lamoureux, D. Comparative mapping of the wheat 5B short chromosome arm distal region with rice, relative to a crossability locus / D. Lamoureux, C. Boeuf, F. Regad, O. Garsmeur, G. Charmet, P. Sourdille, P. Lagoda, M. Bernard // Theoretical and Applied Genetics. – 2002 – Vol. 105 – № 5. – P. 759-765. – <https://doi.org/10.1007/s00122-002-0916-2>
85. Lange, W. The position on chromosome 5B of wheat of the locus determining crossability with rye / W. Lange, R. Riley // Genetics Research. – 1973. – Vol. 22. – № 2. – P. 143-153. – <https://doi.org/10.1017/S0016672300012933>
86. Lange, W. The crossing of common wheat (*Triticum aestivum* L.) with cultivated rye (*Secale cereale* L.). I. Crossability, pollen grain germination and pollen tube growth / W. Lange, B. Wojciechowska // Euphytica. – 1976. – Vol. 25. – № 1. – P. 609-620. – <https://doi.org/10.1007/BF00041598>
87. Lein, A. Die genetische Grundlage der Kreuzbarkeit zwischen Weizen und Roggen / A. Lein // Zeitschrift für Induktive Abstammungs- und Vererbungslehre. – 1943. – Vol. 81. – № 1. – P. 28-61. – <https://doi.org/10.1007/BF01847441>
88. Li, Y. C. Microsatellites: genomic distribution, putative functions and mutational mechanisms: a review / Y. C. Li, A. B. Korol, A. Beiles, E. Nevo // Molecular Ecology. – 2002a. – Vol. 11. – № 12. – P. 2453-2465. – <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2002.01643.x>
89. Li, L. Functional cloning and characterization of a plant efflux carrier for multidrug and heavy metal detoxification / L. Li, Z. He, G. K. Pandey, Tsuchiya T., S. Luan // Journal of Biological Chemistry. – 2002b. – Vol. 277. – № 7. – P. 5360-5368. – <https://doi.org/10.1074/jbc.m108777200>
90. Li, A. Isolation of a gibberellin-insensitive dwarfing gene, *Rht-B1e*, and development of an allele-specific PCR marker / A. Li, W. Yang, X. Guo, D. Liu, J. Sun, A. Zhang // Molecular Breeding. – 2012. – Vol. 30. – № 3. – P. 1443-1451. – <https://doi.org/10.1007/s11032-012-9730-y>
91. Li, A. Novel natural allelic variations at the *Rht-1* loci in wheat / A. Li, W. Yang, X. Lou, D. Liu, J. Sun, X. Guo, J. Wang, I. Li, K. Zhan, H. Q. Ling, A. Zhang // Journal of Integrative Plant Biology. – 2013. – Vol. 55 – № 11. – P. 1026-1037. – <https://doi.org/10.1111/jipb.12103>
92. Li, Z. Molecular cytogenetic characterization of new wheat-rye 1R(1B) substitution and translocation lines from a Chinese *Secale cereale* L. Aigan with resistance to stripe rust / Z. Li,

- Z. Ren, F. Tan, Z. Tang, S. Fu, B. Yan, T. Ren // PLoS One. – 2016. – Vol. 11. № 9. – Art. e0163642. – <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0163642>
93. Likhenko, I. E. Study of allelic composition of *Vrn-1* and *Ppd-1* genes in early-ripening and middle-early varieties of spring soft wheat in Siberia / I. E. Likhenko, A. I. Stasyuk, A. B. Shcherban, A. F. Zyryanova, N. I. Likhenko, E. A. Salina // Russian Journal of Genetics: Applied Research. – 2015. – Vol. 5, № 3. – P. 198-207. – <https://doi.org/10.1134/S2079059715030107>
 94. Liu, S. A telomere-to-telomere genome assembly coupled with multi-omic data provides insights into the evolution of hexaploid bread wheat / S. Liu, K. Li, X. Dai, G. Qin, D. Lu, Z. Gao, X. Li, B. Song, J. Bian, D. Ren, Y. Liu, X. Chen, Y. Xu, W. Liu, C. Yang, X. Liu, S. Chen, J. Li, B. Li, H. He, X. W. Deng // Nature Genetics. – 2025. – Vol. 57. – № 4. – P. 1008-1020. – <https://doi.org/10.1038/s41588-025-02137-x>
 95. Liu, Y. G. Restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis in wheat. II. Linkage maps of the RFLP sites in common wheat / Y. G. Liu, K. Tsunewaki // The Japanese Journal of Genetics. – 1991. – Vol. 66. – № 5. – P. 617-633. – <https://doi.org/10.1266/jjg.66.617>
 96. Lou, X. The 160 bp insertion in the promoter of *Rht-B1i* plays a vital role in increasing wheat height / X. Lou, X. Li, A. Li, M. Pu, M. Shoaib, D. Liu, J. Sun, A. Zhang, W. Yang // Frontiers in Plant Science. – 2016. – Vol. 7. – Art. 307. – <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00307>
 97. Mago, R. High-resolution mapping and mutation analysis separate the rust resistance genes *Sr31*, *Lr26* and *Yr9* on the short arm of rye chromosome 1 / R. Mago, H. Miah, G. J. Lawrence, C. R. Wellings, W. Spielmeier, H. S. Bariana, R. A. McIntosh, A. J. Pryor, J. G. Ellis // Theoretical and Applied Genetics. – 2005. – Vol. 112. – № 1. – P. 41-50. – <https://doi.org/10.1007/s00122-005-0098-9>
 98. Manickavelu, A. Identification of differential gene expression for *Kr1* gene in bread wheat using annealing control primer system / A. Manickavelu, T. Koba, K. Mishina, H. Sassa // Molecular Biology Reports. – 2009a. – Vol. 36. – № 8. – P. 2111-2118. – <https://doi.org/10.1007/s11033-008-9423-0>
 99. Manickavelu, A. Molecular characterization of crossability gene *Kr1* for intergeneric hybridization in *Triticum aestivum* (Poaceae: Triticeae) / A. Manickavelu, T. Koba, K. Mishina, H. Sassa // Plant Systematics and Evolution. – 2009b. – Vol. 278. – № 1-2. – P. 125-131. – <https://doi.org/10.1007/s00606-008-0139-3>
 100. Mason, A. S. SSR genotyping / A. S. Mason // Plant Genotyping: Methods and Protocols / ed. J. Batley. – New York, NY: Humana Press, 2015. – P. 77-89. – https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1966-6_6

101. Mishina, K. Molecular mapping of *SKr* for crossability in common wheat / K. Mishina, H. Sato, A. Manickavelu, H. Sassa, T. Koba // *Breeding Science*. – 2009. – Vol. 59. № 5. – P. 679-684. – <https://doi.org/10.1270/jsbbs.59.679>
102. Molnár-Láng, M. Development of a wheat genotype combining the recessive crossability alleles *kr1kr1kr2kr2* and the 1BL.1RS translocation, for the rapid enrichment of 1RS with new allelic variation / M. Molnár-Láng, A. Cseh, É. Szakács, I. Molnár // *Theoretical and Applied Genetics*. – 2010. – Vol. 120. № 8. – P. 1535-1545. – <https://doi.org/10.1007/s00122-010-1274-0>
103. Molnár-Láng, M. The crossability of wheat with rye and other related species / M. Molnár-Láng // *Alien introgression in wheat* / eds. M. Molnár-Láng, G. Láng, L. Szakács. – Cham: Springer, 2015. – P. 103-120. – https://doi.org/10.1007/978-3-319-23494-6_4
104. Moskal, K. The pros and cons of rye chromatin introgression into wheat genome / K. Moskal, S. Kowalik, W. Podyma, B. Łapiński, M. Boczkowska // *Agronomy*. – 2021. – Vol. 11. № 3. – Art. 456. – <https://doi.org/10.3390/agronomy11030456>
105. Muterko, A. F. Molecular-genetic mechanisms of regulation of growth habit in wheat / A. F. Muterko, I. A. Balashova, V. I. Fayt, Y. M. Sivolap // *Cytology and Genetics*. – 2015a. – Vol. 49. – № 1. – P. 58-71. – <https://doi.org/10.3103/S0095452715010089>
106. Muterko, A. Novel alleles of the *VERNALIZATION1* genes in wheat are associated with modulation of DNA curvature and flexibility in the promoter region / A. Muterko, R. Kalendar, E. Salina // *BMC Plant Biology*. – 2016a. – Vol. 16. – № 1. – Art. 65. – <https://doi.org/10.1186/s12870-015-0691-2>
107. Muterko, A. Allelic variation at the *VERNALIZATION-A1*, *VRN-B1*, *VRN-B3*, and *PHOTOPERIOD-A1* genes in cultivars of *Triticum durum* Desf. / A. Muterko, R. Kalendar, E. Salina // *Planta*. – 2016b. – Vol. 244. № 6. – P. 1253-1263. – <https://doi.org/10.1007/s00425-016-2584-5>
108. Neff, M. M. dCAPS, a simple technique for the genetic analysis of single nucleotide polymorphisms: experimental applications in *Arabidopsis thaliana* genetics / M. M. Neff, J. D. Neff, J. Chory, A. E. Pepper // *The Plant Journal*. – 1998. – Vol. 14. № 3. – P. 387-392. – <https://doi.org/10.1046/j.1365313X.1998.00124.x>
109. Neff, M. M. Web-based primer design for single nucleotide polymorphism analysis / M. M. Neff, E. Turk, M. Kalishman // *Trends in Genetics*. – 2002. – Vol. 18. № 12. – P. 613-615. – [https://doi.org/10.1016/s0168-9525\(02\)02820-2](https://doi.org/10.1016/s0168-9525(02)02820-2)
110. Nei, M. Analysis of gene diversity in subdivided populations / M. Nei // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 1973. – Vol. 70. – № 12. – P. 3321-3323. – <https://doi.org/10.1073/pnas.70.12.3321>

111. Nelson, J. C. Molecular mapping of wheat. Homoeologous group 2 / J. C. Nelson, A. E. V. Deynze, M. E. Sorrells, E. Autrique, Y. H. Lu, M. Merlino, M. D. Atkinson, P. Leroy // *Genome*. – 1995a. – Vol. 38. – № 3. – P. 516-524. – <https://doi.org/10.1139/g95-067>
112. Nelson, J. C. Molecular mapping of wheat. Homoeologous group 3 / J. C. Nelson, A. E. V. Deynze, M. E. Sorrells, E. Autrique, Y. H. Lu, S. Negre, M. Bernard, P. Leroy // *Genome*. – 1995b. – Vol. 38. – № 3. – P. 525-533. – <https://doi.org/10.1139/g95-068>
113. Nelson, J. C. Molecular mapping of wheat: major genes and rearrangements in homoeologous groups 4, 5, and 7 / J. C. Nelson, M. E. Sorrells, A. E. Van Deynze, Y. H. Lu, M. Atkinson, M. Bernard, P. Leroy, J. D. Faris, J. A. Anderson // *Genetics*. – 1995c. – Vol. 141. – № 2. – P. 721-731. – <https://doi.org/10.1093/genetics/141.2.721>
114. Niu, E. A G-type lectin receptor-like kinase *TaSRLK* confers wheat resistance to stripe rust by regulating the reactive oxygen species signaling pathway / E. Niu, Y. Zhang, H. Xu, B. Xu, Q. Liang, H. Li, J. Wang // *Stress Biology*. – 2025. – Vol. 5. – Art. 37. – <https://doi.org/10.1007/s44154-025-00225-w>
115. Okonechnikov, K. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit / K. Okonechnikov, O. Golosova, M. Fursov // *Bioinformatics*. – 2012. – Vol. 28. – № 8. – P. 1166-1167. – <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts091>
116. Owuoche, J. O. The efficiency of copper use by 5A/5RL wheat-rye translocation lines and wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars / J. O. Owuoche, K. G. Briggs, G. J. Taylor // *Plant and Soil*. – 1996. – Vol. 180. № 1. – P. 113-120. – <https://doi.org/10.1007/BF00015417>
117. Pascual, L. Development of a multipurpose core collection of bread wheat based on high-throughput genotyping data / L. Pascual, M. Fernández, N. Aparicio, M. López-Fernández, R. Fité, P. Giraldo, M. Ruiz // *Agronomy*. – 2020. – Vol. 10. № 4. – Art. 534. – <https://doi.org/10.3390/agronomy10040534>
118. Paux, E. A physical map of the 1-gigabase bread wheat chromosome 3B / E. Paux, P. Sourdille, J. Salse, C. Saintenac, F. Choulet, P. Leroy, A. Korol, M. Michalak, S. Kianian, W. Spielmeier, E. Lagudah, D. Somers, A. Kilian, M. Alaux, S. Vautrin, H. Bergès, K. Eversole, R. Appels, J. Safar, H. Simkova, J. Dolezel, M. Bernard, C. Feuillet // *Science*. – 2008. – Vol. 322. – № 5898. – P. 101-104. – <https://doi.org/10.1126/science.1161847>
119. Peakall, R. GenA1Ex 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update / R. Peakall, P. E. Smouse // *Bioinformatics*. – 2012. – Vol. 28. – № 19. – P. 2537-2539. – <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts460>
120. Pearce, S. Molecular characterization of *Rht-1* dwarfing genes in hexaploid wheat / S. Pearce, R. Saville, S. P. Vaughan, P. M. Chandler, E. P. Wilhelm, C. A. Sparks, N. Al-Kaff, A. Korolev, M.

- I. Boulton, A. L. Phillips, P. Hedden, P. Nicholson, S. G. Thomas // Plant Physiology. – 2011. – Vol. 157. – № 4. – P. 1820-1831. – <https://doi.org/10.1104/pp.111.183657>
121. Peng, J. 'Green revolution' genes encode mutant gibberellin response modulators / J. Peng, D. E. Richards, N. M. Hartley, G. P. Murphy, K. M. Devos, J. E. Flintham, J. Beales, L. L. Fish, A. J. Worland, F. Pelica, D. Sadhakar, P. Christou, J. W. Snape, M. D. Gale, N. P. Harberd // Nature. – 1999. – Vol. 400. № 6741. – P. 256-261. <https://doi.org/10.1038/22307>
 122. Pershina, L. A. Plant chromosome engineering is an area of biotechnology / L. A. Pershina // Russian Journal of Genetics: Applied Research. – 2014. – Vol. 4. – № 4. – P. 311-317. – <https://doi.org/10.1134/S207905971404008X>
 123. Pershina, L. A. Interspecific incompatibility in the wide hybridization of plants and ways to overcome it / L. A. Pershina, N. V. Trubacheeva // Russian Journal of Genetics: Applied Research. – 2017. – Vol. 7. – № 4. – P. 358-368. – <https://doi.org/10.1134/S2079059717040098>
 124. Porotnikov, I. V. A system of molecular markers to identify alleles of the *Rht-B1* and *Rht-D1* genes controlling reduced height in bread wheat / I. V. Porotnikov, O. P. Mitrofanova, O. Yu. Antonova // Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektzii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. – 2022. – Vol. 26. № 2. – P. 128-138. – <https://doi.org/10.18699/VJGB-22-16>
 125. Porter, D. R. New sources of resistance to greenbug in wheat / D. R. Porter, J. A. Webster, R. L. Burton, G. J. Puterka, E. L. Smith // Crop Science. – 1991. – Vol. 31. № 6. – P. 1502-1504. – <https://doi.org/10.2135/cropsci1991.0011183X003100060021x>
 126. Pretorius, Z. A. Detection of virulence to wheat stem rust resistance gene *Sr31* in *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* in Uganda / Z. A. Pretorius, R. P. Singh, W. W. Wagoire, T. S. Payne // Plant Disease. – 2000. – Vol. 84. № 2. – P. 203. – <https://doi.org/10.1094/PDIS.2000.84.2.203B>
 127. Pugsley, A. T. A genetic analysis of the spring wheat habit in wheat / A. T. Pugsley // Australian Journal of Agricultural Research. – 1971. – Vol. 22. – № 1. – P. 21-31. – <https://doi.org/10.1071/AR9710021>
 128. Pyukkenen, V. P. The Characteristics of Primary Hybrids Obtained in Crosses between Common Wheat from China and Cultivated Rye / V. P. Pyukkenen, G. I. Pendinen, O. P. Mitrofanova // Russian Journal of Genetics. – 2019. – Vol. 55. – № 11. – P. 1306-1314. – <https://doi.org/10.1134/S1022795419110115>
 129. Rabinovich, S. V. Importance of wheat-rye translocations for breeding modern cultivar of *Triticum aestivum* L. / S. V. Rabinovich // Euphytica. – 1998. – Vol. 100. – № 1/3. – P. 323-340. – <https://doi.org/10.1023/A:1018361819215>
 130. Rauf, Y. Association Mapping for Biomass and Kernel Traits in Doubled-Haploid Population Derived from Texas Wheat Cultivars / Y. Rauf, Z. Wang, K. Parker, S. A. Baker, J. A. Baker, J.

- C. Rudd, Q. Xue, A. Ibrahim, S. Liu // *Genes*. – 2025. – Vol. 16. – № 10. – Art. 1172. – <https://doi.org/10.3390/genes16101172>
131. Reif, J. C. Wheat genetic diversity trends during domestication and breeding / J. C. Reif, P. Zhang, S. Dreisigacker, M. L. Warburton, M. van Ginkel, D. Hoisington, A. E. Melchinger // *Theoretical and Applied Genetics*. – 2005. – Vol. 110. № 5. – P. 859-864. – <https://doi.org/10.1007/s00122-004-1881-8>
 132. Ren, T. H. Development and characterization of a new 1BL.1RS translocation line with resistance to stripe rust and powdery mildew of wheat / T. H. Ren, Z. J. Yang, B. J. Yan, H. Q. Zhang, S. L. Fu, Z. L. Ren // *Euphytica*. – 2009. – Vol. 169. – № 2. – P. 207-213. – <https://doi.org/10.1007/s10681-009-9924-5>
 133. Ren, T. H. Genetic diversity of wheat-rye 1BL.1RS translocation lines derived from different wheat and rye sources / T. H. Ren, F. Chen, B. J. Yan, H. Q. Zhang, Z. L. Ren // *Euphytica*. – 2012. – Vol. 183. № 2. – P. 133-146. – <https://doi.org/10.1007/s10681-011-0412-3>
 134. Ren, T. Molecular cytogenetic characterization of novel wheat-rye T1RS.1BL translocation lines with high resistance to diseases and great agronomic traits / T. Ren, Z. Tang, S. Fu, B. Yan, F. Tan, Z. Ren, Z. Li // *Frontiers in Plant Science*. – 2017. – Vol. 8. – Art. 799. – <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00799>
 135. Riley, R. The inheritance in wheat of crossability with rye / R. Riley, V. Chapman // *Genetics Research*. – 1967. – Vol. 9. – № 3. – P. 259-267. – <https://doi.org/10.1017/S0016672300010569>
 136. Röder, M. S. A microsatellite map of wheat / M. S. Röder, V. Korzun, K. Wendehake, J. Plaschke, M. H. Tixier, P. Leroy, M. W. Ganal // *Genetics*. – 1998. – Vol. 149. № 4. – P. 2007-2023. – <https://doi.org/10.1093/genetics/149.4.2007>
 137. Roussel, V. Molecular diversity in French bread wheat accessions related to temporal trends and breeding programmes / V. Roussel, J. Koenig, M. Beckert, F. Balfourier // *Theoretical and Applied Genetics*. – 2004. – Vol. 108. – № 5. – P. 920-930. – <https://doi.org/10.1007/s00122-003-1502-y>
 138. Rui, M. The crossability percentages of 96 bread wheat landraces and cultivars from Japan with rye / M. Rui, D. S. Zheng, L. Fan // *Euphytica*. – 1995. – Vol. 81. – № 3. – P. 301-306. – <https://doi.org/10.1007/BF00037112>
 139. Saga, Y. Plant-specific domains and fragmented sequences imply non-canonical functions in plant aminoacyl-tRNA synthetases / Y. Saga, M. Kawashima, S. Sakai, K. Yamazaki, M. Kaneko, M. Takahashi, T. Kushiro // *Genes*. – 2020. – Vol. 11. – № 9. – Art. 1056. – <https://doi.org/10.3390/genes11091056>
 140. Salina, E. A. Features of the organization of bread wheat chromosome 5BS based on physical mapping / E. A. Salina, M. A. Nesterov, Z. Frenkel, A. A. Kiseleva, E. M. Timonova, F. Magni,

- J. Vrána, J. Šafář, H. Šimková, J. Doležel, A. Korol, E. M. Sergeeva // BMC Genomics. – 2018. – Vol. 19. – № 1. – Art. 80. – <https://doi.org/10.1186/s12864-018-4470-y>
141. Scarth, R. The control of the day-length response in wheat by the group 2 chromosomes / R. Scarth, C. N. Law // Zeitschrift für Pflanzenzüchtung. – 1984. – Vol. 92. № 2. – P. 140-150.
 142. Sears, E. R. Identification of chromosomes carrying genes for stem rust resistance in four varieties of wheat / E. R. Sears, W. Q. Loegering, H. A. Rodenhiser // Agronomy Journal. – 1957. – Vol. 49. – № 4. – P. 208-212. – <https://doi.org/10.2134/agronj1957.00021962004900040012x>
 143. Shavrukov, Y. N. CAPS markers in plant biology / Y. N. Shavrukov // Russian Journal of Genetics: Applied Research. – 2016. – Vol. 6. № 3. – P. 279-287. – <https://doi.org/10.1134/S2079059716030114>
 144. Shcherban, A. B. Effect of *VRN-1* and *PPD-D1* genes on heading time in European bread wheat cultivars / A. B. Shcherban, A. Börner, E. A. Salina // Plant Breeding. – 2015. – Vol. 134. – № 1. – P. 49-55. – <https://doi.org/10.1111/pbr.12223>
 145. Sitch, L. A. Intrachromosomal mapping of crossability genes in wheat (*Triticum aestivum*) / L. A. Sitch, J. W. Snape, S. J. Firman // Theoretical and Applied Genetics. – 1985. – Vol. 70. – № 3. – P. 309-314. – <https://doi.org/10.1007/BF00304917>
 146. Singh, S. Crossability of some bread wheat landraces and improved cultivars from western Himalayas with rye / S. Singh, G. S. Sethi // Euphytica. – 1991. – Vol. 53. – № 2. – P. 137-141. – <https://doi.org/10.1007/BF00023794>
 147. Snape, J. W. The crossabilities of wheat varieties with *Hordeum bulbosum* / J. W. Snape, V. Chapman, J. Moss, C. E. Blanchard, T. E. Miller // Heredity. – 1979. – Vol. 42. – № 3. – P. 291-298. – <https://doi.org/10.1038/hdy.1979.32>
 148. Snape, J. Mapping of genes controlling crossability and homoeologous chromosome pairing on chromosome 5B using molecular markers / J. Snape, W. Zhang, Y. Wang, G. Moore, T. Foote, R. Dunford, Y. Zheng // Annual Wheat Newsletter. – 1995. – Vol. 41. – P. 205-206
 149. Somers, D. J. A high-density microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.) / D. J. Somers, P. Isaac, K. Edwards // Theoretical and Applied Genetics. – 2004. – Vol. 109. – № 6. – P. 1105-1114. – <https://doi.org/10.1007/s00122-004-1740-7>
 150. Stein, J. C. Molecular cloning of a putative receptor protein kinase gene encoded at the self-incompatibility locus of *Brassica oleracea* / J. C. Stein, B. Howlett, D. C. Boyes, M. E. Nasrallah, J. B. Nasrallah // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 1991. – Vol. 88. – № 19. – P. 8816-8820. – <https://doi.org/10.1073/pnas.88.19.8816>
 151. Stein, N. A 1,000-loci transcript map of the barley genome: new anchoring points for integrative grass genomics / N. Stein, M. Prasad, U. Scholz, T. Thiel, H. Zhang, M. Wolf, R. Kota, R. K.

- Varshney, D. Perovic, I. Grosse, A. Graner // Theoretical and Applied Genetics. – 2007. – Vol. 114. – № 5. – P. 823-839. – <https://doi.org/10.1007/s00122-006-0480-2>
152. Stelmakh, A. F. Growth habit in common wheat (*Triticum aestivum* L. em. Thell.) / A. F. Stelmakh // Euphytica. – 1987. – Vol. 36. – № 2. – P. 513-519. – <https://doi.org/10.1007/BF00041495>
153. Stevens, C. J. Between China and South Asia: A Middle Asian corridor of crop dispersal and agricultural innovation in the Bronze Age / C. J. Stevens, C. Murphy, R. Roberts, L. Lucas, F. Silva, D. Q. Fuller // The Holocene. – 2016. – Vol. 26. № 10. – P. 1541-1555. – <https://doi.org/10.1177/0959683616650268>
154. Sun, Y. Lectin receptor-like kinases: the sensor and mediator at the plant cell surface / Y. Sun, Z. Qiao, W. Muchero, J. G. Chen // Frontiers in Plant Science. – 2020. – Vol. 11. – Art. 596301. – <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.596301>
155. Szakács, É. 1RS arm of *Secale cereanum* ‘Kriszta’ confers resistance to stripe rust, improved yield components and high arabinoxylan content in wheat / É. Szakács, K. Szőke-Pázsai, B. Kalapos, A. Schneider, L. Ivanizs, M. Rakszegi, G. Vida, I. Molnár, M. Molnár-Láng // Scientific Reports. – 2020. – Vol. 10. – Art. 1792. – <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58419-3>
156. Takayama, S. Molecular mechanism of self-recognition in *Brassica* self-incompatibility / S. Takayama, A. Isogai // Journal of Experimental Botany. – 2003. – Vol. 54. – № 380. – P. 149-156. – <https://doi.org/10.1093/jxb/erg007>
157. Tamura, K. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11 / K. Tamura, G. Stecher, S. Kumar // Molecular Biology and Evolution. – 2021. – Vol. 38. – № 7. – Art. msab120. – P. 3022-3027. – <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>
158. Tang, Z. X. Characterization of three wheat cultivars possessing new 1BL.1RS wheat-rye translocations / Z. X. Tang, S. L. Fu, Z. L. Ren, H. Q. Zhang, Z. J. Yang, B. J. Yan // Plant Breeding. – 2009. – Vol. 128. № 5. – P. 524-527. – <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2008.01598.x>
159. Tautz, D. Simple sequences are ubiquitous repetitive component of eukaryotic genomes / D. Tautz, M. Renz // Nucleic Acids Research. – 1984. – Vol. 12. – № 10. – P. 4127-4138. – <https://doi.org/10.1093/nar/12.10.4127>
160. Temnykh, S. Computational and experimental analysis of microsatellites in rice (*Oryza sativa* L.): frequency, length variation, transposon association, and genetic marker potential / S. Temnykh, G. DeClerck, A. Lukashova, L. Lipovich, S. Cartinhour, S. McCouch // Genome Research. – 2001. – Vol. 11. – № 8. – P. 1441-1452. – <https://doi.org/10.1101/gr.184001>
161. Thuillet, A. C. Direct estimation of mutation rate for 10 microsatellite loci in durum wheat, *Triticum turgidum* (L.) Thell. ssp *durum* Desf. / A. C. Thuillet, D. Bru, J. David, P. Roumet, S.

- Santoni, P. Sourdille, T. Bataillon // *Molecular Biology and Evolution*. – 2002. – Vol. 19. – № 1. – P. 122-125. – <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a003977>
162. Timonova, E. M. A comparative genetic and cytogenetic mapping of wheat chromosome 5B using introgression lines / E. M. Timonova, O. B. Dobrovol'skaya, E. M. Sergeeva, L. L. Bildanova, P. Sourdille, C. Feuillet, E. A. Salina // *Russian Journal of Genetics*. – 2013. – Vol. 49. – № 12. – P. 1200-1206. – <https://doi.org/10.1134/S1022795413120132>
 163. Tixier, M. H. Detection of QTLs for crossability in wheat using a doubled-haploid population / M. H. Tixier, P. Sourdille, G. Charmet, G. Gay, C. Jaby, T. Cadalen, S. Bernard, P. Nicolas, M. Bernard // *Theoretical and Applied Genetics*. – 1998. – Vol. 97. – № 7. – P. 1076-1082. – <https://doi.org/10.1007/s001220050994>
 164. Tong, J. Genome-wide atlas of rust resistance loci in wheat / J. Tong, C. Zhao, D. Liu, D. T. Jambuthenne, M. Sun, E. Dinglasan, L. T. Hickey, K. E. L. Voss-Fels, J. S. S. Sidhu, B. J. Hayes // *Theoretical and Applied Genetics*. – 2024. – Vol. 137. – № 8. – Art. 179. – <https://doi.org/10.1007/s00122-024-04689-8>
 165. Totsky, I. V. Genotyping of potato samples from the GenAgro ICG SB RAS collection using DNA markers of genes conferring resistance to phytopathogens / I. V. Totsky, I. V. Rozanova, A. D. Safonova, A. S. Batov, Yu. A. Gureeva, E. K. Khlestkina, A. V. Kochetov // *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. – 2021. – Vol. 25. – № 6. – P. 677-686. – <https://doi.org/10.18699/VJ21.077>
 166. Turner, A. The pseudo-response regulator *Ppd-H1* provides adaptation to photoperiod in barley / A. Turner, J. Beales, S. Faure, R. P. Dunford, D. A. Laurie // *Science*. – 2005. – Vol. 310. № 5750. – P. 1031-1034. – <https://doi.org/10.1126/science.1117619>
 167. Vilanova, S. Development of SSR markers located in the G1 linkage group of apricot (*Prunus armeniaca* L.) using a bacterial artificial chromosome library / S. Vilanova, J. M. Soriano, D. A. Lalli, C. Romero, A. G. Abbott, G. Llácer, M. L. Badenes // *Molecular Ecology Notes*. – 2006. – Vol. 6. – № 3. – P. 789-791. – <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2006.01346.x>
 168. Voorrips, R. E. MapChart: Software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs / R. E. Voorrips // *Journal of Heredity*. – 2002. – Vol. 93. № 1. – P. 77-78. – <https://doi.org/10.1093/jhered/93.1.77>
 169. Vranová, E. Network analysis of the *MVA* and *MEP* pathways for isoprenoid synthesis / E. Vranová, D. Coman, W. Gruissem // *Annual Review of Plant Biology*. – 2013. – Vol. 64. – P. 665-700. – <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050312-120116>
 170. Walkowiak, S. Multiple wheat genomes reveal global variation in modern breeding / S. Walkowiak, L. Gao, C. Monat [et al.] // *Nature*. – 2020. – Vol. 588. – № 7837. – P. 277-283. – <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2961-x>

171. Ward, J. H. Hierarchical grouping to optimize an objective function / J. H. Ward // Journal of the American Statistical Association. – 1963. – Vol. 58. – № 301. – P. 236-244. <https://dx.doi.org/10.1080/01621459.1963.10500845>
172. Wen, W. Sequence variations of the partially dominant DELLA gene Rht-B1c in wheat and their functional impacts / W. Wen, Q. Deng, H. Jia, L. Wei, J. Wei, H. Wan, L. Yang, W. Cao, Z. Ma // Journal of Experimental Botany. – 2013. – Vol. 64. № 11. – P. 3299-3312. – <https://doi.org/10.1093/jxb/ert183>
173. Wen, W. A high-density consensus map of common wheat integrating four mapping populations scanned by the 90K SNP array / W. Wen, Z. He, F. Gao, J. Liu, H. Jin, S. Zhai, Y. Qu, X. Xia // Frontiers in Plant Science. – 2017. – Vol. 8. – Art. 1389. – P. 1-19. – <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01389>
174. Worland, A. J. The distribution in European winter wheats of genes that influence ecoclimatic adaptability whilst determining photoperiodic insensitivity and plant height / A. J. Worland, M. L. Appendino, E. J. Sayers // Euphytica. – 1994. – Vol. 80. № 3. – P. 219-228. – <https://doi.org/10.1007/BF00039653>
175. Worland, A. J. The influence of photoperiod genes on the adaptability of European winter wheat / A. J. Worland, A. Börner, V. Korzun, M. W. Li, S. Petrovic, E. J. Sayers // Euphytica. – 1998. – Vol. 100. № 1/3. – P. 385-394. – <https://doi.org/10.1023/A:1018327700985>
176. Wilhelm, E. P. Haplotype dictionary for the *Rht-1* loci in wheat / E. P. Wilhelm, I. J. Mackay, R. J. Saville, A. V. Korolev, F. Balfourier, A. J. Greenland, M. I. Boulton, W. Powell // Theoretical and Applied Genetics. – 2013. – Vol. 126. № 7. – P. 1733-1747. – <https://doi.org/10.1007/s0012201320887>
177. Wu, J. Dominant and pleiotropic effects of a *GAI* gene in wheat results from a lack of interaction between *DELLA* and *GIDI* / J. Wu, X. Kong, J. Wan, X. Liu, X. Zhang, X. Guo, R. Zhou, G. Zhao, R. Jing, X. Fu, J. Jia // Plant Physiology. – 2011. – Vol. 157. № 4. – P. 2120-2130. – <https://doi.org/10.1104/pp.111.185272>
178. Würschum, T. A modern Green Revolution gene for reduced height in wheat / T. Würschum, S. M. Langer, C. F. H. Longin, M. R. Tucker, W. L. Leiser // The Plant Journal. – 2017. – Vol. 92. № 5. – P. 892-893. – <https://doi.org/10.1111/tpj.13726>.
179. Xie, D. X. RFLP-based genetic maps of the homoeologous group 5 chromosomes of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) / D. X. Xie, K. M. Devos, G. Moore, M. MD. Gale // Theoretical and Applied Genetics. – 1993. – Vol. 87. – № 1. – P. 70-74. – <https://doi.org/10.1007/BF00223747>
180. Yan, L. Positional cloning of the wheat vernalization gene *VRN1* / L. Yan, A. Loukoianov, G. Tranquilli, M. Helguera, T. Fahima, J. Dubcovsky // Proceedings of the National Academy of

- Sciences of the United States of America. – 2003. – Vol. 100. – № 10. – P. 6263-6268. – <https://doi.org/10.1073/pnas.0937399100>
181. Yan, L. Allelic variation at the *VRN1* promoter region in polyploid wheat / L. Yan, M. Helguera, K. Kato, S. Fukuyama, J. Sherman, J. Dubcovsky // Theoretical and Applied Genetics. – 2004. – Vol. 109. – № 8. – P. 1677-1686. – <https://doi.org/10.1007/s00122-004-1796-4>
 182. Yang, M. Y. Diversity resistance to *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in rye chromosome arm 1RS expressed in wheat / M. Y. Yang, T. H. Ren, B. J. Yan, Z. Li, Z. L. Ren // Genetics and Molecular Research. – 2014. – Vol. 13. № 4. – P. 8783-8793. – <https://doi.org/10.4238/2014.October.27.20>
 183. Yang, W. Crossability of 102 CIMMYT synthetic hexaploid wheats with rye / W. Yang, J. Li, X. Hu // Southwest China Journal of Agricultural Sciences. – 2007. – Vol. 20. – № 2. – P. 218-224.
 184. Ye, J. Primer-BLAST: a tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction / J. Ye, G. Coulouris, I. Zaretskaya, I. Cutcutache, S. Rozen, T. L. Madden // BMC Bioinformatics. – 2012. – Vol. 13. – № 134. – Art. 134. – <https://doi.org/10.1186/1471-2105-13-134>
 185. Ye, Y. The role of receptor-like protein kinases (RLKs) in abiotic stress response in plants / Y. Ye, Y. Ding, Q. Jiang, F. Wang, J. Sun, C. Zhu // Plant Cell Reports. – 2017. – Vol. 36. – № 2. – P. 235-242. – <https://doi.org/10.1007/s00299-016-2084-x>
 186. Zeven, A. C. Crossability percentages of some 1400 bread wheat varieties and lines with rye / A. C. Zeven // Euphytica. – 1987. – Vol. 36. – № 1. – P. 299-319. – <https://doi.org/10.1007/BF00730677>
 187. Zhang, X. Distribution of the *Rht-B1b*, *Rht-D1b* and *Rht8* reduced height genes in autumn-sown Chinese wheats detected by molecular markers / X. Zhang, S. Yang, Y. Zhou, Z. He, X. Xia // Euphytica. – 2006. – Vol. 152. № 1. – P. 109-116. – <https://doi.org/10.1007/s1068100691846>
 188. Zhang, X. K. Allelic variation at the vernalization genes *Vrn-A1*, *Vrn-B1*, *Vrn-D1*, and *Vrn-B3* in Chinese wheat cultivars and their association with growth habit / X. K. Zhang, Y. G. Xiao, Y. Zhang, X. C. Xia, J. Dubcovsky, Z. H. He // Crop Science. – 2008. – Vol. 48. – № 2. – P. 458-470. – <https://doi.org/10.2135/cropsci2007.06.0355>
 189. Zhang, L. Discovery of quantitative trait loci for crossability from a synthetic wheat genotype / L. Zhang, J. Wang, R. Zhou, J. Jia // Journal of Genetics and Genomics. – 2011. – Vol. 38. – № 8. – P. 373-378. – <https://doi.org/10.1016/j.jgg.2011.07.002>
 190. Zhang, J. A single nucleotide polymorphism at the *Vrn-D1* promoter region in common wheat is associated with vernalization response / J. Zhang, Y. Wang, S. Wu, J. Yang, H. Liu, Y. Zhou // Theoretical and Applied Genetics. – 2012. – Vol. 125. – № 8. – P. 1697-1704. – <https://doi.org/10.1007/s00122-012-1946-z>
 191. Zhao, X. Population genomics unravels the Holocene history of bread wheat and its relatives / X. Zhao, Y. Guo, L. Kang, C. Yin, A. Bi, D. Xu, J. Wang, L. Jiao, B. Wang, L. Zhao, C. Gao, H.

- Wu, J. Li, L. Wang, H. Xiang // Nature Plants. – 2023. – Vol. 9. № 3. – P. 403-419. – doi.org/10.1038/s41477-023-01367-3
192. Zheng, Y. L. Chromosome location of a new crossability gene in common wheat [*Triticum aestivum*] / Y. L. Zheng, M. C. Luo, C. Yen, J. L. Yang // Wheat Information Service. – 1992. – Vol. 75. – P. 36-40.
 193. Zheng-Song, P. Crossability of tetraploid wheat landraces native to Sichuan, Shaanxi, Gansu and Xinjiang provinces, China with rye / P. Zheng-Song, L. Deng-Cai, Y. Chi, Y. Jun-Liang // Genetic Resources and Crop Evolution. – 1998. – Vol. 45. – № 1. – P. 57-62. – <https://doi.org/10.1023/A:1008669429068>
 194. Zhou, Y. *Triticum* population sequencing provides insights into wheat adaptation / Y. Zhou, X. Zhao, Y. Li, J. Xu, A. Bi, L. Kang, D. Xu, H. Chen, Y. Wang, Y. Geng, G. Qin, K. Li, S. Liu // Nature Genetics. – 2020. – Vol. 52. № 12. – P. 1412-1422. – <https://doi.org/10.1038/s41588-020-00722-w>
 195. Zhu, T. Optical maps refine the bread wheat *Triticum aestivum* cv. Chinese Spring genome assembly / T. Zhu, L. Wang, H. Rimbart, J. C. Rodriguez, K. R. Deal, R. De Oliveira, F. Choulet, G. Keeble-Gagnère, J. Tibbits, J. Rogers, K. Eversole, R. Appels, Y. Q. Gu, M. Mascher, J. Dvorak, M. C. Luo // The Plant Journal. – 2021. – Vol. 107. – № 1. – P. 303-314. – <https://doi.org/10.1111/tpj.1528>

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1 – Первый набор из 105 образцов (392 растений) мягкой пшеницы с известной скрещиваемостью с рожью посевной, отобранных по литературе для апробации ДНК-маркеров гена *SKr*

№ по каталогу ВИР (к-)	Название образца	Происхождение (по ISO 3166-1)	Тип развития ¹	Скрещиваемость (в %) с рожью (литературный источник, №) ²	Номер растения, из которого выделена ДНК	Скрещиваемость (%) растений в годы проверки				Аллельный ³ состав (п.н.) локусов, сцепленных с геном <i>SKr</i> , у растений					Образец: ОД – однородный ГТ – гетерогенный	Характеристика по генам <i>Rht-B1</i> , <i>Rht-D1</i> , <i>Vrn1</i> и <i>Ppd-D1</i>	SSR-анализ
						2020	2021	2022	2023	<i>cfb341</i>	<i>gene12</i>	<i>TGlc2</i>	<i>gene13</i>	гаплотип			
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Высокая скрещиваемость с рожью посевной (по данным литературы + подтверждено нашей фенотипической оценкой)																	
23806	Punjab Tipe 8A	PAK	S	28,8 (1)	p.1			37,5		168	391	288	456	#7	ОД	+	+
					p.2			33,3		168	391	288	456	#7			
					p.3		14,3	43,0		168	391	288	456	#7			
					p.4			35,0		168	391	288	456	#7			
24961	Akadaruma	JPN	S	70,8 (2)	p.1, 2					176	391	291	456	#1	ОД		
					p.3		62,5			176	391	291	456	#1		+	+
					p.4		43,8			176	391	291	456	#1			
					p.5	87,5				176	391	291	456	#1			
28574	Л35-ХСР ⁴	CHN	S	39,3 (3)	p.1					176	391	291	456	#1	ОД		
					p.2				55,6	176	391	291	456	#1			
					p.3				55,6	176	391	291	456	#1		+	+
28681	Л37-ХСР ⁴	CHN	S	43,0 (3)	p.1-3					176	391	291	456	#1	ОД		
					p.4			68,8		176	391	291	456	#1		+	+
28695	Л30-ХСР ⁴	CHN	S	85,7 (3)	p.1-3					176	391	291	456	#1	ОД		
					p.4				52,6	176	391	291	456	#1		+	+
29045	Л33-ХСР ⁴	CHN	S	72,7 (3)	p.1			40,0		176	391	291	456	#1	ГТ	+	+
					p.2			50,0		176	391	291	451	#3		+	+
					p.3-5					176	391	291	456	#1			

Продолжение приложения 1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
38587	Сибирка Ярцевская	RUS	S	79,3 (2)	p.1		37,5			163	342	279	451	#2			
					p.2			45,5		135	0	256	421	#8			
					p.3		56,3			135	0	256	421	#8			
					p.4		35,3			163	342	279	451	#2			
41889	Bage	BRA	S	65,9 (1)	p.1			41,7		176	391	291	456	#1	ОД	+	+
					p.2			69,2		176	391	291	456	#1			
					p.3		8,3	27,0		176	391	291	456	#1			
42052	—	CHN	S	66,0 (2)	p.1					176	342	291	451	#4	ОД		
					p.2			33,3		176	342	291	451	#4			
42912	Л112-ХСР ⁴	CHN	W	59,1 (3)	p.1				85,0	176	391	291	456	#1	ОД	+	+
					p.2				80,0	176	391	291	456	#1			
					p.3, 4					176	391	291	456	#1			
42990	Л140-ХСР ⁴	CHN	W	56,0 (3)	p.1				57,1	176	391	291	456	#1	ОД	+	+
					p.2				50,0	176	391	291	456	#1			
43080	Chinese Spring	CHN	S	69,5 (2)	p.1	40,4				176	391	291	456	#1	ОД		
					p.2		50,0			176	391	291	456	#1			
					p.3			93,8		176	391	291	456	#1		+	+
46119	Л119-ХСР ⁴	CHN	W	67,1 (3)	p.1, 2					176	391	291	456	#1	ОД		
					p.3				92,0	176	391	291	456	#1		+	+
46333	Gamut	AUS	S	58,0 (4)	p.1	46,2				176	391	291	456	#1	ОД		
					p.2		53,3			176	391	291	456	#1			
					p.3		64,3			176	391	291	456	#1			
					p.4		64,3			176	391	291	456	#1			
51371	Norin 16	JPN	W	81,1 (5)	p.1		46,2	60,0		176	391	291	456	#1	ОД		
					p.2		7,7	68,0		176	391	291	456	#1			
					p.3			41,7		176	391	291	456	#1		+	+
					p.4, 5					176	391	291	456	#1			
59275	Линия 421	CHN	W	69,9 (6)	p.1	52,6		37,5	58,3	176	391	291	456	#1	ОД	+	+
					p.2				56,3	176	391	291	456	#1			
					p.3	52,6		38,0		176	391	291	456	#1			

Продолжение приложения 1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
59276	Линия 427	CHN	W	68,4 (6)	p.1		61,1			176	391	291	456	#1	ОД		
					p.2	70,0				176	391	291	456	#1			
59277	Линия 430	CHN	W	83,2 (6)	p.1					176	391	291	456	#1	ГТ		
					p.2				93,3	176	391	291	456	#1		+	+
59278	Линия 432	CHN	W	81,6 (6)	p.1	55,5				176	391	291	456	#1	ОД		
					p.2	47,6				176	391	291	456	#1			
61249	Norin 68	JPN	W	73,1 (5)	p.1, 2, 4					176	391	291	456	#1	ОД		
					p.3			36,0		176	391	291	456	#1			
62541	Л31-ХСР ⁴	CHN	S	47,5 (3)	p.1				75,0	176	391	291	456	#1	ОД	+	+
					p.2				83,3	176	391	291	456	#1			
					p.3-5					176	391	291	456	#1			
62782	Л42-ХСР ⁴	CHN	W	71,4 (3)	p.1			40,0		176	320	291	451	#11	ОД	+	+
					p.2			35,7		176	320	291	451	#11			
					p.3-5					176	320	291	451	#11			
62899	Л32-ХСР ⁴	CHN	S	51,4 (3)	p.1, 2					176	391	291	451	#3	ОД		
					p.3			58,3		176	391	291	451	#3		+	+
69057	Л1-ХСР	CHN	W	54,0 (3)	p.1				64,3	176	391	291	456	#1	ОД	+	+
					p.2				62,5	176	391	291	456	#1			
69059	Л3-ХСР	CHN	W	56,0 (3)	p.1				69,0	176	391	291	456	#1	ГТ	+	+
					p.2				72,2	176	391	291	451	#3		+	+
					p.3, 4					176	391	291	456	#1			
69060	Л4-ХСР	CHN	W	59,2 (3)	p.1, 2					176	391	291	451	#3	ОД		
					p.3			33,3		176	391	291	451	#3			
69061	Л5-ХСР	CHN	W	41,9 (3)	p.1				56,0	176	391	291	456	#1	ОД	+	+
					p.2				70,0	176	391	291	456	#1			
					p.3, 4					176	391	291	456	#1			
69063	Л7-ХСР	CHN	W	41,9 (3)	p.1-3					176	391	291	451	#3	ОД		
					p.4				69,0	176	391	291	451	#3			
69064	Л8-ХСР	CHN	W	67,9 (3)	p.1				35,7	176	391	291	451	#3	ОД	+	+
					p.2				44,4	176	391	291	451	#3			
					p.3, 4					176	391	291	451	#3			

Продолжение приложения 1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
69065	Л9-ХСР	CHN	W	75,0 (3)	p.1				75,0	176	391	291	456	#1	ОД	+	+
					p.2				62,5	176	391	291	456	#1			
					p.3-4					176	391	291	456	#1			
69066	Л10-ХСР	CHN	W	58,5 (3)	p.1				43,8	176	391	291	451	#3	ОД	+	+
					p.2				43,8	176	391	291	451	#3			
					p.3-4					176	391	291	451	#3			
69067	Л11-ХСР	CHN	W	63,0 (3)	p.1				81,3	176	391	291	451	#3	ОД	+	+
					p.2				75,0	176	391	291	451	#3			
69068	Л14-ХСР	CHN	W	56,3 (3)	p.1, 2					176	391	291	451	#3	ОД		
					p.3				81,3	176	391	291	451	#3		+	+
69070	Л16-ХСР	CHN	W	58,2 (3)	p.1				50,0	176	391	291	456	#1	ОД		
					p.2				80,0	176	391	291	456	#1		+	+
					p.3, 4					176	391	291	456	#1			
69071	Л18-ХСР	CHN	W	76,0 (3)	p.1				62,5	176	391	291	456	#1	ОД	+	+
					p.2				81,3	176	391	291	456	#1			
					p.3, 4					176	391	291	456	#1			
69072	Л21-ХСР	CHN	W	93,3 (3)	p.1					176	391	291	456	#1	ОД		
					p.2				77,0	176	391	291	456	#1		+	+
69073	Л22-ХСР	CHN	W	63,3 (3)	p.1		0,0	36,0		163	391	279	451	#5	ОД		
					p.2				93,8	163	391	279	451	#5		+	+
69074	Л23-ХСР	CHN	W	74,3 (3)	p.1				90,0	176	391	291	456	#1	ОД	+	+
					p.2				75,0	176	391	291	456	#1			
					p.3					176	391	291	456	#1			
69075	Л24-ХСР	CHN	W	60,0 (3)	p.1				63,6	176	391	291	451	#3	ОД	+	+
					p.2			58,3		176	391	291	451	#3			
					p.3, 4					176	391	291	451	#3			

Продолжение приложения 1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
69077	Л27-ХСР	CHN	W	54,6 (3)	p.1				44,0	176	391	291	456	#1	ОД	+	+
					p.2				71,4	176	391	291	456	#1			
					p.3-4					176	391	291	456	#1			
69078	Л41-ХСР	CHN	W	62,2 (3)	p.1				100,0	176	391	291	456	#1	ОД		
					p.2				75,0	176	391	291	456	#1		+	+
					p.3				84,2	176	391	291	456	#1			
					p.4					176	391	291	456	#1			
Высокая скрещиваемость с рожью посевной (по данным литературы)																	
28681	Л29-ХСР ⁴	CHN	S	50,0 (3)	p.1-3					176	391	291	451	#3	ОД		
28695	Л38-ХСР ⁴	CHN	S	85,3 (3)	p.1, 2					176	391	291	456	#1	ОД		
42146	Л34-ХСР ⁴	CHN	S	48,4 (3)	p.1-3					176	391	291	451	#3	ОД		
43981	Л25-ХСР ⁴	CHN	W	48,0 (3)	p.1, 2					176	391	291	456	#1	ОД		
44048	Л36-ХСР ⁴	CHN	S	66,7 (3)	p.1-3					176	391	291	451	#3	ОД		
44435	Л28-ХСР ⁴	CHN	S	65,4 (3)	p.1-3					176	391	291	456	#1	ОД		
57397	Norin 34	JPN	W	67,1 (5)	p.1-5					176	391	291	456	#1	ОД		
57405	Norin 45	JPN	W	84,6 (5)	p.1-5					176	391	291	456	#1	ОД		
57409	Norin 52	JPN	W	54,2 (5)	p.1-5					176	391	291	456	#1	ОД		
57413	Norin 56	JPN	W	71,2 (5)	p.1-3					176	391	291	456	#1	ОД		
57414	Norin 57	JPN	W	82,7 (5)	p.1-5					176	391	291	456	#1	ОД		
57415	Norin 63	JPN	W	58,0 (5)	p.1-4					176	391	291	456	#1	ОД		
59273	Линия 405	CHN	W	33,9 (6)	p.1-4					163	342	279	451	#2	ГТ		
59274	Линия 407	CHN	W	52,7 (6)	p.1-3					163	342	279	451	#2	ГТ		
69076	Л26-ХСР	CHN	W	50,0 (3)	p.1, 2					176	391	291	456	#1	ОД		
Высокая скрещиваемость с рожью посевной (по данным нашей фенотипической оценки)																	
28573	I 11	CHN	I	39,3	p.1-3					176	391	291	451	#3	ОД		
					p.4			31,6		176	391	291	451	#3			
					p.5			47,0		176	391	291	451	#3		+	+

Продолжение приложения 1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Низкая скрещиваемость с рожью посевной (по данным литературы + подтверждено нашей фенотипической оценкой)																	
4132	Хлудовская	RUS	S	1,0 (2)	p.1-3					163	342	279	451	#2	ОД		
					p.4, 5			0,0		163	342	279	451	#2			
5784	Colorado 50	USA	S	4,9 (2)	p.1, 2					176	391	291	456	#1	ОД		
					p.3		0,0			176	391	291	456	#1			
					p.4		0,0	0,0		176	391	291	456	#1			
					p.5		0,0			176	391	291	456	#1		+	+
					p.6			6,0		176	391	291	456	#1			
17167	—	SYR	S	0,0 (2)	p.1, 2		0,0			163	342	279	451	#2	ОД		
					p.3		6,3			163	342	279	451	#2			
					p.4, 5					163	342	279	451	#2			
23568	Pusa 52	IND	S	2,0 (2)	p.1, 2, 4, 6					176	391	291	456	#1	ОД		
					p.3			0,0		176	391	291	456	#1			
					p.5			8,0		176	391	291	456	#1			
25665	Hope	USA	S	2,7 (7)	p.1, 2		0,0			176	391	291	456	#1	ОД		
					p.3		0,0			176	391	291	456	#1		+	+
25712	Pusa 111	IND	S	0,0 (2)	p.1, 2					176	391	291	456	#1	ОД		
					p.3-5		0,0			176	391	291	456	#1			
30137	Балаганка	RUS	S	1,8 (2)	p.1			0,0		163	342	279	451	#2	ОД		
					p.2			11,0		163	342	279	451	#2			
					p.3			0,0		163	342	279	451	#2		+	+
33531	Desi	IND	S	0,9 (2)	p.1, 2					176	391	291	451	#3	ОД		
					p.3		0,0	0,0		176	391	291	451	#3			
					p.4		0,0	9,0		176	391	291	451	#3			
					p.5			13,0		176	391	291	451	#3			
					p.6			0,0		176	391	291	451	#3			
37319	Опочецкая	RUS	S	4,6 (2)	p.1, 2, 4					163	342	279	451	#2	ОД		
					p.3			0,0		163	342	279	451	#2			
					p.5			6,0		163	342	279	451	#2			

Продолжение приложения 1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
37320	Ледовка	BEL	S	3,6 (2)	p.1-3					163	342	279	451	#2	ОД		
					p.4, 5			0,0		163	342	279	451	#2			
					p.6			0,0		163	342	279	451	#2		+	+
37393	—	RUS	S	2,1 (2)	p.1-3					163	342	279	451	#2	ОД		
					p.4-5			0,0		163	342	279	451	#2			
					p.6			0,0		163	342	279	451	#2		+	+
41725	Karn II	SWE	S	0,0 (2)	p.1-3					163	342	279	451	#2	ОД		
					p.4-6			0,0		163	342	279	451	#2			
41764	Klein Sin Pival	ARG	S	1,0 (8)	p.1-3, 6					163	342	279	451	#2	ОД		
					p.4		7,1			163	342	279	451	#2		+	+
					p.5		0,0			163	342	279	451	#2			
41989	Acadia	CAN	S	3,1 (2)	p.1, 2					176	391	291	456	#1	ОД		
					p.3, 4		0,0			176	391	291	456	#1			
					p.5		0,0	6,0		176	391	291	456	#1			
					p.6			0,0		176	391	291	456	#1		+	+
42394	Ma-zha-mai	CHN	W	5,0 (9)	p.1		12,5			176	391	291	456	#1	ОД		
					p.2		0,0			176	391	291	456	#1			
					p.3, 4					176	391	291	456	#1			
43099	Red Bobs 222	CAN	S	4,0 (2)	p.1, 2					176	391	291	456	#1	ГТ		
					p.3		0,0	0,0		176	391	291	456	#1		+	+
					p.4		0,0	0,0		176	391	291	456	#1			
					p.5			0,0		176	391	291	456	#1			
					p.6			8,0		163	342	279	451	#2			
43920	Мироновская 808	UKR	W	1,0 (6)	p.1			7,1		163	342	279	451	#2	ОД	+	+
50738	Courtot	FRA	W	10,0 (10)	p.1			7,0		163	342	279	451	#2	ОД	+	+
					p.2, 3					163	342	279	451	#2			
51153	Klein 157	ARG	S	0,5 (8)	p.1, 2					176	391	291	456	#1	ОД		
					p.3		0,0			176	391	291	456	#1			
					p.4		0,0	13,0		176	391	291	456	#1			
					p.5, 6			0,0		176	391	291	456	#1			

Продолжение приложения 1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Низкая скрещиваемость с рожью посевной (по данным литературы)																	
33785	Mara	CSK	W	2,0 (11)	p.1					176	391	291	456	#1	ОД	+	+
					p.2-4					176	391	291	456	#1			
35841	Cheyenne	USA	W	9,1 (1)	p.1					176	391	291	456	#1	ОД	+	+
					p.2-5					176	391	291	456	#1			
38179	Ostka Lopuska	POL	S	1,4 (2)	p.1-4					163	342	279	451	#2	ОД		
49878	Maris Hobbit	GBR	W	0,0 (12)	p.1, 2					163	342	279	451	#2	ОД		
					p.3					163	342	279	451	#2		+	+
64312	Красота	RUS	W	6,3 (13)	p.1-3					176	391	291	456	#1	ОД		
64350	Батько	RUS	W	2,2 (13)	p.1-3					176	391	291	456	#1	ОД		
64584	Восторг	RUS	W	1,3 (13)	p.1-3					176	391	291	456	#1	ОД		
64587	Нота	RUS	W	3,9 (13)	p.1-3					176	391	291	456	#1	ОД		
64610	Грация	RUS	W	1,4 (13)	p.1-3					163	342	279	451	#2	ОД		
65077	Ариадна	RUS	W	7,8 (13)	p.1-3					163	342	279	451	#2	ОД		
65221	Васса	RUS	W	0,2 (13)	p.1-3					163	342	279	451	#2	ОД		
65757	Немчиновская 24	RUS	W	2,0 (13)	p.1, 2					163	342	279	456	#6	ОД		
					p.3					163	342	279	456	#6		+	+
65758	Немчиновская 57	RUS	W	2,1 (13)	p.1-3					163	342	279	451	#2	ОД		
65759	Московская 40	RUS	W	5,4 (13)	p.1-3					176	391	291	456	#1	ОД		
Низкая скрещиваемость с рожью посевной (по данным нашей фенотипической оценки)																	
45291	Lancer	USA	W	6,0	p.1			6,0		176	391	291	456	#1	ОД	+	+
45900	Festiguay	AUS	S	0,0	p.1-3					163	342	279	451	#2	ОД		
					p.4-6			0,0		163	342	279	451	#2			
49089	—	AFG	I	0,0	p.1-3					163	342	279	451	#2	ОД		
					p.4-6			0,0		163	342	279	451	#2			
51610	Sadovska Ranozrejka 3	BGR	I	3,2	p.1, 2					176	391	291	456	#1	ОД		
					p.3		7,1	0,0		176	391	291	456	#1			
					p.4		11,8	0,0		176	391	291	456	#1			
					p.5		0,0	0,0		176	391	291	456	#1			
9552950	Moro of Sind	PAK	S	0,7	p.1		0,0			168	391	288	456	#7	ГТ	+	+
					p.2		1,4			151	342	268	451	#9		+	+
					p.3					151	342	268	451	#9			

Продолжение приложения 1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
55863	—	PRT	S	0,0	p.1		0,0	0,0		176	391	291	456	#1	ОД		
					p.2-4					176	391	291	456	#1			
63279	Julius	AUT	W	0,0	p.1			0,0	0,0	163	342	279	451	#2			
Низкая скрещиваемость с рожью посевной по данным нашей фенотипической оценки (высокая - по данным литературы)																	
34883	Смесь Линий 04/1	RUS	S	51,6 (2)	p.1			8,0		163	342	279	451	#2	ОД		
					p.2			4,0		163	342	279	451	#2			
					p.3			0,0		163	342	279	451	#2			
41529	Красная Звезда	KAZ	S	72,0 (1)	p.1-3			0,0		176	391	291	456	#1	ОД		
45148	Norin 27	JPN	W	82,8 (5)	p.1		0,0			163	342	279	451	#2	ОД		
					p.2		10,5			163	342	279	451	#2			
					p.3		5,6			163	342	279	451	#2			
60726	MA-808	RUS	W	84,0 (14)	p.1-3		0,0	0,0		176	391	291	456	#1	ОД		
60727	AM-808	RUS	W	84,0 (14)	p.1, 2		0,0	0,0		163	342	279	451	#2	ОД		
60811	Zaragosa S75	MEX	S	61,5 (1)	p.1-3			0,0		163	342	279	451	#2	ОД		
61559	Fukuho Komugi	JPN	W	67,8 (5)	p.1, 2	0,0				176	391	291	456	#1	ОД		
					p.3, 4		0,0		0,0	176	391	291	456	#1			
Гетерогенность по скрещиваемости с рожью посевной																	
69062	Л6-ХСР	CHN	W	55,4 (3)	p.1		0,0	0,0		163	342	279	451	#2	ГТ	+	+
					p.2		16,0	25,0		176	391	291	451	#3		+	+
					p.3,4					163	342	279	451	#2			
					p.5					176	391	291	451	#3			
					p.6					163+176	342+391	279+291	451	#2+3			

Примечания: 1 – указан тип развития: S – Яровой (Spring), W – Озимый (Winter), I – Факультативный (Intermediate). 2 – в скобках указаны следующие литературные источники по скрещиваемости образцов МП с рожью: (1) – Zeven, 1987; (2) – Ригин, 1976; (3) – Пюккенен, 2007; (4) – Snape et al., 1979; (5) – Rui et al., 1995; (6) – Суриков, Киссель, 1985; (7) – Riley, Chapman, 1967; (8) – Рехметулин, 1987; (9) – Cai et al., 2016 a; (10) – Tixier et al., 1998; (11) – Krolow, 1970; (12) – Bertin et al., 2009; (13) – Рубец, 2016; (14) – Рехметулин, 1988. 3 – темно-серой и светло-серой заливкой обозначены аллели, ассоциированные с высокой или низкой скрещиваемостью с рожью, соответственно. 4 – для отмеченных линий Л#-ХСР приведены каталожные номера образцов, из которых они были выделены (Пюккенен, 2007)

Приложение 2 – Второй набор из растений 108 стародавних образцов мягкой пшеницы (страны Азии) с неизвестной скрещиваемостью с рожью посевной

№ по каталогу ВИР (к-)	Название образца (прочерком образцы без названия)	Происхождение (по ISO 3166-1)	Тип развития*	№ растения, из которого выделена ДНК	Скрещиваемость (в %) растений		Аллельный* состав (п.н.) локусов, сцепленных с геном <i>SKr</i> , у растений					Образец: ОД - однородный, ГТ- гетерогенный	Характеристика по генам <i>Rht-B1</i> , <i>Rht-D1</i> , <i>Vrn1</i> и <i>Ppd-D1</i>	SSR-анализ
					2023	средняя	<i>cfb341</i>	<i>gene12</i>	<i>TGlc2</i>	<i>gene13</i>	гаплотип			
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Высокая скрещиваемость с рожью посевной														
7997	—	MNG	S			35,7						ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	456	#1			
				p.2	35,7		176	391	291	456	#1		+	+
8034	—	MNG	S			59,4						ОД		
				p.1 и bulk			181	391	300	456	#12			
				p.2	56,3		181	391	300	456	#12		+	+
				p.3	62,5		181	391	300	456	#12			
12352	—	AFG	S			35,7						ОД		
				p.1 и bulk			176	320	291	451	#11			
				p.2	35,7		176	320	291	451	#11		+	+
14958	8A	PAK	S			51,3						ОД		
				p.1 и bulk			168	391	284	456	#7			
				p.2	50,0		168	391	284	456	#7			
				p.3	52,6		168	391	284	456	#7		+	+
14960	8B	PAK	S			41,7						ОД		
				p.1 и bulk			168	391	284	456	#7			
				p.2	33,3		168	391	284	456	#7		+	+
				p.3	50,0		168	391	284	456	#7			
23808	Punjab Tipe 23	PAK	S			30,0						ОД		
				p.1 и bulk			168	391	284	456	#7			
				p.2	30,0		168	391	284	456	#7		+	+

Продолжение приложения 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Низкая скрещиваемость с рожью посевной														
5158	Bushak	IND	S		0,0 (1)***	0,0						ОД		
				p.1 и bulk			168	391	284	456	#7			
				p.2	0,0		168	391	284	456	#7		+	+
5504	Type No.9	PAK	S		0,0 (3)***	0,0						ОД		
				p.1	0,0		168	391	284	456	#7		+	+
				bulk			168	391	284	456	#7			
5507	Type No.11	PAK	S		0,0 (1)***	0,0						ОД		
				p.1			163	342	279	451	#2			
5518	Type No.19H	PAK	S		7,0 (2)***	7,0						ОД		
				p.1 и bulk			163	342	279	451	#2			
5545	Lal of Batala	IND	S		2,0 (2)***	2,0						ОД		
				p.1 и bulk			168	391	284	456	#7			
				p.2	0,0		168	391	284	456	#7		+	+
5589	Bihar 41	IND	S		0,0 (3)***	0,0						ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	456	#1			
5601	Bihar 55	IND	S		0,0 (3)***	0,0						ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	456	#1			
7909	—	MNG	S		0,0 (2)***	0,0						ОД		
				p.1 и bulk			135	0	256	421	#8			
				p.2	0,0		135	0	256	421	#8			
7911	—	MNG	S		0,0 (2)***	0,0						ОД		
				p.1 и bulk			135	0	256	421	#8			
				p.2	0,0		135	0	256	421	#8		+	+
7926	—	MNG	S		0,0 (2)***	0,0						ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	456	#1			
12367	—	AFG	S		10,1 (2)***	10,1						ОД		
				p.1 и bulk			163	342	279	451	#2			
12382	—	AFG	S		0,0 (2)***	0,0						ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	456	#1			

Продолжение приложения 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
12422	—	AFG	S		0,0 (2)***	0,0						ОД		
			p.1 и bulk				163	342	279	451	#2			
12480	—	AFG	S		0,0 (2)***	0,0						ОД		
			p.1 и bulk				176	391	291	456	#1			
21195	Hindi	IND	S		6,9 (2)***	6,9						ОД		
			p.1 и bulk				163	342	279	451	#2			
21776	—	IRN	S		0,0 (2)***	0,0						ОД		
			p.1 и bulk				176	391	291	456	#1			
22258	—	IND	S		0,0 (2)***	0,0						ОД		
			p.1 и bulk				163	342	279	451	#2			
22261	—	IND	S		0,0 (1)***	0,0						—		
			p.1				168	391	284	456	#7			
22308	Lyallpur 9	IND	S		0,0 (2)***	0,0						ОД		
			p.1				168	391	284	456	#7			
			p.2	0,0			168	391	284	456	#7		+	+
23797	Punjab Tipe 19	PAK	S		2,0 (3)3	1,5						ОД		
			p.1 и bulk				151	342	268	451	#9			
			p.2	0,0			151	342	268	451	#9		+	+
23801	Punjab Tipe 17	PAK	S		0,0 (3)***	0						ОД		
			p.1 и bulk				176	391	291	456	#1			
32848	—	IRN	S		0,0 (3)***	0,0						ОД		
			p.1				176	391	291	456	#1			
Неизвестная скрещиваемость с рожью посевной														
7934	—	MNG	S									ГТ		
			p.1				176	391	291	456	#1			
			bulk				163+176	342+391	279+291	451+456	#1+2			
7967	—	MNG	S									ГТ		
			p.1				135	0	256	421	#8			
			bulk				135+176	391	256+291	421+456	#1+8			
7972	—	MNG	S									ОД		
			p.1 и bulk				176	391	291	456	#1			

Продолжение приложения 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
7973	—	MNG	S									ОД		
			p.1 и bulk				176	391	291	456	#1			
7975	—	MNG	S									ГТ		
			p.1				176	391	291	456	#1			
			bulk				163+176	342+391	279+291	451+456	#1+2			
10678	—	IRN	S									ОД		
			p.1 и bulk				163	342	279	451	#2			
12366	—	AFG	S									ОД		
			p.1 и bulk				176	391	291	456	#1			
12412	—	AFG	S									ОД		
			p.1 и bulk				176	391	291	456	#1			
13071		AFG	S									ОД		
			p.1 и bulk				176	391	291	456	#1			
13072	—	AFG	S									ОД		
			p.1 и bulk				163	342	279	451	#2			
13504	—	AFG	S									ОД		
			p.1 и bulk				163	342	279	451	#2			
14351	—	IRN	S									ОД		
			p.1 и bulk				163	342	279	451	#2			
14371	—	IRN	S	p.1			163	342	279	451	#2	ГТ		
			bulk				163+176	342+391	279+291	451+456	#1+2			
14393	—	TUR	S									ОД		
			p.1 и bulk				163	342	279	451	#2			
14397	—	TUR	S									ОД		
			p.1 и bulk				163	342	279	451	#2			
14421	—	TUR	S									ОД		
			p.1 и bulk				163	342	279	451	#2			
14439	—	TUR	S									ОД		
			p.1 и bulk				163	342	279	451	#2			
14443	—	TUR	S									ОД		
			p.1 и bulk				163	342	279	451	#2			

Продолжение приложения 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
14497	—	TUR	S									ОД		
				bulk			163	342	279	451	#2			
14513	—	TUR	S									ОД		
				p.1 и bulk			163	342	279	451	#2			
14562	—	TUR	S									ГТ		
				p.1			163	342	279	451	#2			
				bulk			163+176	342+391	279+291	451+456	#1+2			
16072	—	TUR	S									ГТ		
				p.1			163	342	279	451	#2			
				bulk			163+176	342+391	279+291	451	#2+3			
21011	—	TUR	S									ОД		
				p.1 и bulk			163	342	279	451	#2			
23811	Punjab Tipe 15	PAK	S									ОД		
				p.1 и bulk			168	391	284	456	#7			
23812	Punjab Tipe 9	PAK	S									ОД		
				p.1			163	342	279	451	#2			
26085	—	CHN	S									ОД		
				bulk			176	391	291	456	#1			
28378	C 21	CHN	W									ГТ		
				p.1			176	391	291	456	#1			
				bulk			176	391	291	451+456	#1+3			
28383	C 27	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	451	#3			
28407	C 52	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	451	#3			
28440	C 85	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	456	#1			
28610	I 50	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	456	#1			
28620	F 2a	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	456	#1			

Продолжение приложения 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
28634	F 12	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	456	#1			
28640	F 17b	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			176	320	291	451	11			
28647	F 24	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	456	#1			
28675	O4(b)	CHN	S									ГТ		
				bulk			163+176	342+391	279+291	451+456	#1+2			
28702	G 7	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	456	#1			
28703	G 8	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	451	#3			
28751	774	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	456	#1			
28766	A 20	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	456	#1			
28767	A 22	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	456	#1			
28771	A 27	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	451	#3			
28774	A 30	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			163	342	279	451	#2			
28775	A 31	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	456	#1			
28784	A 44	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	451	#3			
28789	A 56	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	456	#1			
28825	B 2a	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	456	#1			
28845	B 21	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	456	#1			

Продолжение приложения 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
28846	B 22	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	451	#3			
28852	B 32b	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	456	#1			
28857	B 36	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	456	#1			
28912	D 23c	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	456	#1			
28948	D 57	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	456	#1			
28976	D 92	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	451	#3			
28979	D 95	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	451	#3			
28996	D 118	CHN	W									ГТ		
				bulk			176	391	291	451+456	#1+3			
29063	J 3b	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	456	#1			
29132	H 5b	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	456	#1			
29134	H 6b	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	456	#1			
29139	H9(b)	CHN	S									ОД		
				bulk			176	391	291	456	#1			
32146	—	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	456	#1			
32221	—	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	456	#1			
32849	—	IRN	S									ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	456	#1			
38605	—	IRN	S									ОД		
				p.1 и bulk			163	342	279	451	#2			

Продолжение приложения 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
41562	Zong-nong 28	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	456	#1			
41836	Kan-tan-mai	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	456	#1			
41842	Jin-da 2905	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	456	#1			
41844	Hua-nong 5	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	451	#3			
42469	Da-du-pao	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	456	#1			
42588	Lu-sui-bai	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	451	#3			
42961	Wu-chang-he-shang-mie	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	451	#3			
42967	Chi-yang-zhi-fang-mie	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	451	#3			
42976	Wu-chang-shu-li-qi	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	456	#1			
43057	Yang-mai-zhi	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	456	#1			
43967	Bai-ya-song	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			163	342	279	451	#2			
43975	Leng-lou-cang-shang-bie	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	456	#1			
43990	Liu-long-mi-mie	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	451	#3			
44001	Wu-shan-fan-xiang-mai	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	451	#3			

Продолжение приложения 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
44099	Bai-wu-gong-shui	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	456	#1			
44127	You-nang-xiao-mai	CHN	W									ОД		
				p.1 и bulk			176	391	291	451	#3			

Примечания: * – указан тип развития: S – Яровой (Spring), W – Озимый (Winter), I – Факультативный (Intermediate). ** – темно-серой и светло-серой заливкой обозначены аллели, ассоциированные с высокой или низкой скрещиваемостью с рожью, соответственно. *** – рассчитана средняя скрещиваемость для растений, не использованных в молекулярном скрининге. В скобках указано число изученных растений.

Приложение 3 – Третий набор из растений 27 образцов синтетической гексаплоидной пшеницы коллекции ВИР с известной скрещиваемостью с рожью посевной, отобранных по литературе для апробации ДНК-маркеров гена *SKr*

№ по каталогу ВИР (к-)	Название образца (гибрид <i>T. durum</i> × <i>Ae. tauschii</i>)	Тип развития	Скрещиваемость (%) по литературе (Yang et al., 2007)	№ растения, из которого выделена ДНК	Скрещиваемость (в %) растений в годы проверки				Аллельный состав* (п.н.) локусов, сцепленных с геном <i>SKr</i> , у растений					Образец: ОД - однородный, ГТ - гетерогенный	Характеристика по генам <i>Rht-B1</i> , <i>Rht-D1</i> , <i>Vrn1</i> и <i>Ppd-D1</i>	SSR-анализ
					2020	2021	2022	2023	<i>cfb341</i>	<i>gene12</i>	<i>TGlc2</i>	<i>gene13</i>	гаплотип			
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Высокая скрещиваемость с рожью посевной (по данным литературы + подтверждено нашей фенотипической оценкой)																
65483	DOY 1/ <i>Ae. tauschii</i> (WX188)	S	55,0	p.1	16,7		29,0	35,7	163	342	279	456	#6	ОД		
65497	68.111/RGB-U//WARD Reselection/3/STIL/4/ <i>Ae. tauschii</i> (WX783)	S	25,0	p.1, 2					176	391	291	456	#1	ОД		
				p.3		50,0			176	391	291	456	#1			
65504	LCK59.61/ <i>Ae. tauschii</i> (WX324; TA2473)	S	35,0	p.1		34,5	46,0		163	342	279	451	#2	ОД	+	+
				p.2	25,0		21,0		163	342	279	451	#2			
				p.3					163	342	279	451	#2			
65506	YAR/ <i>Ae. tauschii</i> (WX518)	S	70,0	p.1		0,0	44,0	62,5	176	391	291	456	#1	ОД	+	+
				p.2, 3					176	391	291	456	#1			
				p.4		0,0	44,0		176	391	291	456	#1			
65514	CROC 1/ <i>Ae. tauschii</i> (WX517)	S	65,0	p.1				25,0	176	391	291	456	#1	ОД	+	+
				p.2-4					176	391	291	456	#1			
65516	DVERD 2/ <i>Ae. tauschii</i> (WX1027)	S	35,0	p.1	78,6			25,0	176	391	291	456	#1	ОД	+	+
				p.2					176	391	291	456	#1			
				p.3	38,5				176	391	291	456	#1			
65518	DOY 1/ <i>Ae. tauschii</i> (WX1030)	S	35,0	p.1, 3					176	391	291	456	#1	ОД		
				p.2	25,0				176	391	291	456	#1			
Высокая скрещиваемость с рожью посевной (по данным нашей фенотипической оценки)																
65484	ALTAR 84/ <i>Ae. tauschii</i> (WX192; TA1651)	S	33,3**	p.1		33,3			176	391	291	456	#1	ОД		
				p.2, 3					176	391	291	456	#1			
65490	DUERGAND 2/ <i>Ae. tauschii</i> (WX221; TA2472)	S	40,4**	p.1		30,8			176	391	291	456	#1	ОД		
				p.2		50,0			176	391	291	456	#1			

Продолжение приложения 3

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
65496	68.111/RGB-U//WARD/3/ <i>Ae. tauschii</i> (WX629)	S	47,9**	p.1	62,5			33,3	176	391	291	456	#1	ОД	+	+
				p.2, 3					176	391	291	456	#1			
Высокая скрещиваемость с культурной рожью посевной по данным нашей фенотипической оценки (низкая - по данным литературы)																
65492	ACO89/ <i>Ae. tauschii</i> (WX309; TA2454)	S	15,0	p.1			39,0	27,3	176	391	291	456	#1	ОД	+	+
				p.2	50,0		39,0		176	391	291	456	#1			
65508	SNIPE/YAV79//DACK/TEAL/3/ <i>Ae. tauschii</i> (WX700)	S	2,5	p.1, 3					157+176	391	291	456	#13	ГТ		
				p.2			33,0		157+176	391	291	456	#13			
				p.4				71,0	176	391	291	456	#1			
				p.5			25,0		176	391	291	456	#1			
				p.6, 7					176	391	291	456	#1			
Низкая скрещиваемость с культурной рожью посевной (по данным литературы + подтверждено нашей фенотипической оценкой)																
65487	ALTAR 84/ <i>Ae. tauschii</i> (WX219; TA2465)	S	15,0	p.1	0,0				176	391	291	456	#1	ОД		
				p.2-4					176	391	291	456	#1			
65495	DOY 1/ <i>Ae. tauschii</i> (WX511)	S	2,5	p.1, 3		0,0			176	391	291	456	#1	ОД		
				p.2		5,6			176	391	291	456	#1			
65501	CROC 1/ <i>Ae. tauschii</i> (WX518)	S	2,5	p.1	6,7				176	391	291	456	#1	ОД		
				p.2	8,3				176	391	291	456	#1			
				p.3					176	391	291	456	#1			
65502	YAV 2/TEZ/ <i>Ae. tauschii</i> (WX249; TA2391)	S	15,0	p.1-3					163	342	279	451	#2	ОД		
				p.4			0,0		163	342	279	451	#2			
65503	LCK59.61/ <i>Ae. tauschii</i> (WX313; TA2460)	S	15,0	p.1, 2					163	342	279	451	#2	ОД		
				p.3		0,0			163	342	279	451	#2		+	+
65509	SNIPE/YAV79//DACK/TEAL/3/ <i>Ae. tauschii</i> (WX877; TA2450)	S	2,5	p.1, 3	0,0				176	391	291	456	#1	ОД		
				p.2		0,0			176	391	291	456	#1			
65517	CETA/ <i>Ae. tauschii</i> (WX1027)	S	2,5	p.1		0,0			163	342	279	451	#2	ГТ		
				p.2		0,0			176	391	291	456	#1		+	+
Низкая скрещиваемость с рожью посевной (по данным литературы)																
65485	ROK/KML/ <i>Ae. tauschii</i> (WX214)	S	7,5	p.1-5					176	391	291	456	#1	ОД		
65486	D67.2/P66.270/ <i>Ae. tauschii</i> (WX217; TA2465)	S	7,5	p.1, 2					176	391	291	456	#1	ОД		
65505	SRN/ <i>Ae. tauschii</i> (WX358; TA2516)	S	15,0	p.1-3					163	342	279	451	#2	ОД		

Продолжение приложения 3

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
65507	SNIPY/YAV79//DACK/TEAL/3/ <i>Ae. tauschii</i> (WX629)	S	7,5	p.1-3					176	391	291	456	#1	ОД		
Низкая скрещиваемость с рожью посевной (по данным нашей фенотипической оценки)																
65494	68.111/RGB-U//WARD/3/ <i>Ae. tauschii</i> (WX326; TA2475)	S	0,0**	p.1, 3, 5		0,0			176	391	291	456	#1	ОД	+	+
				p.2		0,0			176	391	291	456	#1			
				p.4, 6					176	391	291	456	#1			
65500	68.111/RGB-U//WARD/3/FGO/4/RABI/5/ <i>Ae. tauschii</i> (WX890; TA2463)	S	7,7**	p.1					176	391	291	456	#1	ОД		
				p.2		7,7			176	391	291	456	#1			
Низкая скрещиваемость с рожью посевной по данным нашей фенотипической оценки (высокая - по данным литературы)																
65513	CETA/ <i>Ae. tauschii</i> (WX174)	S	45,0	p.1-3		0,0			176	391	291	456	#1	ОД		
65515	CETA/ <i>Ae. tauschii</i> (WX1024)	S	45,0	p.1		0,0	0,0		163	342	279	451	#2	ОД		
				p.2		0,0			163	342	279	451	#2			

Примечания: * – темно-серой и светло-серой заливкой обозначены аллели, ассоциированные с высокой или низкой скрещиваемостью с рожью, соответственно. ** – приведены данные по скрещиваемости с рожью, полученные в настоящем исследовании.

Приложение 4 – Праймеры для идентификации аллелей генов *Rht-B1* и *Rht-D1*

Название праймера	Последовательность 5' → 3'	Название маркера	Комбинация праймеров	Целевая область последовательности	Способ идентификации целевого аллеля	Литературные источники
Вложенная ПЦР						
BF	ggtagggaggcgagaggcgag	—	BF/VIR.B1R	—	338 п.н. – все аллели; <i>Rht-B1c</i> – фрагмент	Ellis et al., 2002
VIR.B1R	tcgacccaggaggagaggtcg				отсутствует	Porotnikov et al., 2022
Программа: 94°C – 3 мин 30 сек, 8 циклов [94°C – 45 сек, 69°C (↓ 0,5° на 1 цикл) – 150 сек, 72°C – 60 сек], 30 циклов [94°C – 45 сек, 65°C – 45 сек, 72°C – 45 сек] и в заключение 72°C – 7 мин						
Идентификация <i>Rht-B1b</i>						
BF	ggtagggaggcgagaggcgag	—	BF/MR1	190 C→T	237 п.н.	Ellis et al., 2002
MR1	catccccatggccatctcgagcta				Фрагмент отсутствует	
WR1	catccccatggccatctcgagctg	—	BF/WR1		Фрагмент отсутствует	
VIR.B1R	tcgacccaggaggagaggtcg	CB1b	BF/VIR.B1R	<i>Bst</i> VI1 ¹ : GCAGC ²	Сайт отсутствует	Porotnikov et al., 2022
B1bF	caagatgatggtgtcggggtcgg	dCB1b	B1bF/R ³	<i>Acc</i> 36I: ACCTGC	Сайт отсутствует	
B1bR	ccatccccatggccatctcca <u>ct</u> ⁴					
Программа (для маркера dCB1b/ <i>Acc</i> 36I): 94°C – 3 мин 30 сек, 37 циклов [94°C – 45 сек, 68°C – 45 сек, 72°C – 45 сек] и в заключение 72°C – 7 мин						
Идентификация <i>Rht-B1e</i>						
MR3	ggccatctccagctgctccagcta	—	BF/MR3	181 A→T	228 п.н.	Pearce et al., 2011
WR3	ggccatctccagctgctccagctt		BF/WR3		Фрагмент отсутствует	
B1epF	acaagatgatggtgtcggggtc	dCB1e	B1epF/B1eR ³	<i>Hinf</i> I – GANTC	Сайт отсутствует	Porotnikov et al., 2022
B1eR	gccatctccagctgctccagat ⁴					
Программа (для маркера dCB1e/ <i>Hinf</i> I): 94°C – 3 мин 30 сек, 37 циклов [94°C – 45 сек, 61°C – 45 сек, 72°C – 45 сек] и в заключение 72°C – 7 мин						
Идентификация <i>Rht-B1p</i>						
Rht-B1p-F	acatggcggagctggtgt	—	Rht-B1p-F/Rht-B1-R1	178 C→T	437 п.н.	Bazhenov et al., 2015
Rht-B1-R1	gccgagagaggacgat					
B1pR	catctccagctgctccagcttc	CB1p	B1epF/B1pR ³	<i>Bst</i> HNI: GCGC	Сайт отсутствует	Porotnikov et al., 2022
Программа (для маркера CB1p/ <i>Bst</i> HNI): 94°C – 3 мин 30 сек, 30 циклов [94°C – 45 сек, 62°C – 45 сек, 72°C – 45 сек] и в заключение 72°C – 7 мин						

Продолжение приложения 4

Название праймера	Последовательность 5' → 3'	Название маркера	Комбинация праймеров	Целевая область последовательности	Способ идентификации целевого аллеля	Литературные источники
Идентификация <i>Rht-B1c</i>						
Rht-B1c-F1	ggcaactccaccggacgc	—	Rht-B1c-F1/Rht-B1c-R1	150 G ↓2026 bp C	256 п.н.	Pearce et al., 2011
Rht-B1c-R1	gctctcgaccaggaggag					
Программа: 94°C – 3 мин 30 сек, 8 циклов [94°C – 45 сек, 61°C с понижением на 0,5° на 1 цикл – 1 мин 30 сек, 72°C – 1 мин], 30 циклов [94°C – 45 сек, 57 – °C – 45 сек, 72°C – 45 сек] и в заключение 72°C – 7 мин						
Идентификация <i>Rht-B1h</i>						
Rht-B1h.F	gaggcaaaatcacgcaagtact	—	Rht-B1h.F/Rht-B1h.1R	-592 T ↓197 bp C	247 п.н.	Li et al., 2013
Rht-B1h.1R	taccaaggatattcattccgttagga				331 (остальные аллели - 134 п.н.)	
Rht-B1h.2R	cttatggcaaatggattccaaga	—	Rht-B1h.F/Rht-B1h.2R			
Программа: 94°C – 3 мин 30 сек, 8 циклов [94°C – 45 сек, 63°C с понижением на 0,5° на 1 цикл – 1 мин 30 сек, 72°C – 1 мин], 30 циклов [94°C – 45 сек, 59°C – 45 сек, 72°C – 45 сек] и в заключение 72°C – 7 мин						
Идентификация <i>Rht-B1i-1</i>						
B1i-MF1	cagacgatatttaactggccgattga	—	B1i-MF1/B1i-MR1	-366 A ↓160 bp T	330 п.н.	Lou et al., 2016
B1i-MR1	gggagcggcagcgtagtagttgta					
Программа: 94°C–3 мин 30 сек; 37 циклов [94°C–45 сек, 56°C–45 сек, 72°C–45 сек] и в заключение 72°C–7 мин						
B1i-MF2	ctctaatttcggggatttc	—	B1i-MF2/B1i-MR2	-366 A ↓160 bp T	586 п.н. (остальные аллели – 426 п.н.)	Lou et al., 2016
B1i-MR2	cgtcctggtactcgcgcttcat					
Программа: 94°C – 3 мин 30 сек, 8 циклов [94°C – 45 сек, 66°C с понижением на 0,5° на 1 цикл – 1 мин 30 сек, 72°C – 1 мин], 30 циклов [94°C – 60 сек, 62 °C – 60 сек, 72°C – 45 сек] и в заключение 72°C – 7 мин						

Продолжение приложения 4

Название праймера	Последовательность 5' → 3'	Название маркера	Комбинация праймеров	Целевая область последовательности	Способ идентификации целевого аллеля	Литературные источники
Идентификация <i>Rht-D1b</i>						
DF	cgcgcaattattggccagagatag	—	DF/MR2	181 G→T	254 п.н.	Ellis et al., 2002
MR2	ccccatggccatctcgagctgcta					
DF2	ggcaagcaaaagcttcgcg	—	DF2/WR2		Фрагмент отсутствует	
WR2	ggccatctcgagctgcac					
VIR.D1R	tgctctcgaccaagacgacag	CD1b	DF/VIR.D1b	<i>Bst</i> SFI: CTRYAG	Сайт присутствует	Porotnikov et al., 2022
Программа (для маркера CD1b/ <i>Bst</i> SFI): 94°C – 3 мин 30 сек, 8 циклов [94°C – 45 сек, 68°C с понижением на 0,5° на 1 цикл – 1 мин 30 сек, 72°C – 1 мин], 30 циклов [94°C – 45 сек, 64°C – 45 сек, 72°C – 45 сек] и в заключение 72°C – 7 мин						

Примечания: 1 – вместо данных рестриктаз могут быть использованы их изошизомеры: *Bst*V1I (*Bse*XI, *Bbv*I), *Acc*36I (*Bve*I, *Bsp*MI), *Bst*HHI (*Asp*LEI, *Cfo*I, *Hin*6I, *Hin*P1I, *Hsp*AI), *Bst*SFI (*Bfm*I, *Sfc*I). 2 – в селективной области жирным шрифтом выделены те нуклеотиды в сайтах рестрикции, вариация которых позволяет выявлять необходимые аллели. 3 – для данных комбинаций праймеров в качестве матрицы использованы продукты первого раунда вложенной-ПЦР (разведение в 50 раз). 4 – жирным шрифтом с подчеркиванием выделены модифицированные нуклеотиды в праймерах для dCAPS-маркеров

Приложение 5 – Праймеры для выявления аллелей генов *Vrn-A1*, *Vrn-B1* и *Vrn-D1*

Ген	Аллель	Детектируемая мутация	Праймеры	Диагностический фрагмент (п.н.)	Литературный источник
<i>Vrn-A1</i>	<i>vrn-A1</i>	Промотор без инделей	Vrn1AF VRN-INT1R	713 – <i>vrn-A1</i>	Yan et al., 2004
	<i>Vrn-A1a</i>	Промотор: инсерция 222 п.н.; дупликация 9 п.н.		853, 944 – <i>Vrn-A1a</i>	
	<i>Vrn-A1b</i>	Промотор: делеция 20 п.н.		691 – <i>Vrn-A1b</i>	
	<i>vrn-A1</i>	Интрон 1: без делеции	Vrn-A1-intr_F Vrn-A1-intr_R1	541 – <i>vrn-A1</i>	Muterko et al., 2016 a
	<i>Vrn-A1c</i>	Интрон 1: делеция в 7222 п.н.	Ex1/C/F Intr1/A/R3	522 – <i>Vrn-A1c</i>	Fu et al., 2005
<i>Vrn-B1</i>	<i>vrn-B1</i>	Интрон 1 без инделей	Ex1/C/F Intr1/B/R3 Intr1/B/R4	1531 – <i>vrn-B1</i>	Fu et al., 2005
	<i>Vrn-B1a</i>	Интрон 1: делеция 6850 п.н.		1091 – <i>Vrn-B1a</i>	
	<i>Vrn-B1b</i>	Интрон 1: делеция 36 и 6850 п.н.		1055 – <i>Vrn-B1b</i>	
	<i>Vrn-B1c</i>	Интрон 1: делеция 6850 и 820 п.н., дупликация 431 п.н.		705 – <i>Vrn-B1c</i>	
<i>Vrn-D1</i>	<i>vrn-D1</i>	Интрон 1 без инделей	NID/F NID/R1 NID/R2	775 – <i>vrn-D1</i>	Fu et al., 2005; Zhang et al., 2012 Guo et al., 2015
	<i>Vrn-D1</i>	Интрон 1: Делеция 4235 п.н.		916 – <i>Vrn-D1a/b</i>	
	<i>Vrn-D1a</i>	Экзон 1: Т→G в позиции 161 п.н. от стартового кодона	Intr1/D/F Vrn1-SNP161CR	612 – <i>Vrn-D1a</i>	
	<i>Vrn-D1b</i>	Экзон 1: G→T в позиции 161 п.н. от стартового кодона	Intr1/D/F Vrn1-SNP161AR	612 – <i>Vrn-D1b</i>	

Приложение 6 – Выборка из 78 растений (генотипов) пшеницы с различной скрещиваемостью с рожью посевной для характеристики SSR-локусов, ассоциированных с генами *SKr* и *Kr1*

№ по каталогу ВИР (к-)	Название (жирным – гетерогенные образцы)	Скрещиваемость с рожью (в %)	Происхождение (по ISO 3166-1)	№ по каталогу ВИР (к-)	Название (жирным – гетерогенные образцы)	Скрещиваемость с рожью	Происхождение (по ISO 3166-1)
Высокая скрещиваемость с рожью (N = 51)							
Растения (генотипы), отобранные из стародавних и улучшенных сортов <i>T. aestivum</i> (N = 14)							
7997	к-7997 (p.2)	35,7	MNG	24961	Akadaruma (p.3)	62,5	JPN
8034	к-8034 (p.2)	56,3	MNG	28573	I 11 (p.5)	47,0	CHN
12352	к-12352 (p.2)	35,7	AFG	38587	Сибирка Ярцевская (p.1)	37,5	RUS
14958	8A (p.3)	52,6	PAK	38587	Сибирка Ярцевская (p.2)	45,5	RUS
14960	8B (p.2)	33,3	PAK	41889	Bage (p.1)	41,7	BRA
23806	Punjab Tipe 8a (p.1)	37,5	PAK	43080	Chinese Spring (p.3)	93,8	CHN
23808	Punjab Tipe 23 (p.2)	30,0	PAK	51371	Norin 16 (p.3)	41,7	JPN
Растения (генотипы), отобранные из линий <i>T. aestivum</i> (N = 31)							
28574	Л35-ХСР (p.3)*	55,6	CHN	69061	Л5-ХСР (p.1)	56,0	CHN
28681	Л37-ХСР (p.4)*	68,8	CHN	69062	Л6-ХСР (p.2)	25,0	CHN
28695	Л30-ХСР (p.4)*	52,6	CHN	69064	Л8-ХСР (p.1)	35,7	CHN
29045	Л33-ХСР (p.1)*	40,0	CHN	69065	Л9-ХСР (p.1)	75,0	CHN
29045	Л33-ХСР (p.2)*	50,0	CHN	69066	Л10-ХСР (p.1)	43,8	CHN
42912	Л12-ХСР (p.1)*	85,0	CHN	69067	Л11-ХСР (p.1)	81,3	CHN
42990	Л40-ХСР (p.1)*	57,1	CHN	69068	Л14-ХСР (p.3)	81,3	CHN
46119	Л19-ХСР (p.3)*	92,0	CHN	69070	Л16-ХСР (p.2)	80,0	CHN
59275	Линия 421 (p.1)	49,5	CHN	69071	Л18-ХСР (p.1)	62,5	CHN
59277	Линия 430 (p.2)	93,3	CHN	69072	Л21-ХСР (p.2)	77,0	CHN
62541	Л31-ХСР (p.1)*	75,0	CHN	69073	Л22-ХСР (p.2)	93,8	CHN
62782	Л42-ХСР (p.1)*	40,0	CHN	69074	Л23-ХСР (p.1)	90,0	CHN
62899	Л32-ХСР (p.3)*	58,3	CHN	69075	Л24-ХСР (p.1)	63,6	CHN
69057	Л1-ХСР (p.1)	64,3	CHN	69077	Л27-ХСР (p.1)	44,0	CHN
69059	Л3-ХСР (p.1)	69,0	CHN	69078	Л41-ХСР (p.2)	75,0	CHN
69059	Л3-ХСР (p.1)	72,2	CHN				

Продолжение приложения 6

№ по каталогу ВИР (к-)	Название (жирным – гетерогенные образцы)	Скрещиваемость с рожью (в %)	Происхождение (по ISO 3166-1)	№ по каталогу ВИР (к-)	Название (жирным – гетерогенные образцы)	Скрещиваемость с рожью (в %)	Происхождение (по ISO 3166-1)
Растения (генотипы), отобранные из образцов ×<i>Aegilotriticum</i> (N = 6)							
65492	к-65492 (p.1)	31,7	MEX	65506	к-65506 (p.1)	35,5	MEX
65496	к-65496 (p.1)	47,9	MEX	65514	к-65514 (p.1)	25,0	MEX
65504	к-65504 (p.1)	40,3	MEX	65516	к-65516 (p.1)	51,8	MEX
Низкая скрещиваемость с рожью (N = 27)							
Растения (генотипы), отобранные из стародавних и улучшенных сортов <i>T. aestivum</i> (N = 23)							
5158	Bushak (p.2)	0,0	IND	37393	к-37393 (p.6)	0,0	RUS
5504	Type No.9 (p.1)	0,0	PAK	41764	Klein Sin Pival (p.4)	7,1	ARG
5545	Lal of Batala (p.2)	0,0	IND	41989	Acadia (p.6)	0,0	CAN
5784	Colorado 50 (p.5)	0,0	USA	43099	Red Bobs 222 (p.3)	0,0	CAN
7911	к-7911 (p.2)	0,0	MNG	43920	Мироновская 808 (p.1)	7,1	UKR
22308	Lyallpur 9 (p.2)	0,0	IND	45291	Lancer (p.1)	6,0	USA
23797	Punjab Tipe 19 (p.2)	0,0	PAK	49878	Maris Hobbit (p.3)	0 (Bertin et al., 2009)	GBR
25665	Hope (p.3)	0,0	USA	50738	Courtot (p.1)	7,0	FRA
30137	Балаганка (p.3)	0,0	RUS	52950	Moro of Sind (p.1)	0,0	PAK
33785	Mara (p.1)	2,0 (по Zeven, 1987)	CZE	52950	Moro of Sind (p.2)	1,4	PAK
35841	Cheyenne (p.1)	9,1 (по Zeven, 1987)	USA	65757	Немчиновская 24 (p.3)	2,0 (по Рубец, 2016)	RUS
37320	Ледовка (p.6)	0,0	BLR				
Растение (генотип), отобранный из линии <i>T. aestivum</i> (N = 1)							
69062	Л6-ХСР (p. 1)	0,0	CHN				
Растения (генотипы), отобранные из образцов ×<i>Aegilotriticum</i> (N = 3)							
65494	к-65494 (p.2)	0,0	MEX	65517	к-65517 (p.2)	0,0	MEX
65503	к-65503 (p.3)	0,0	MEX				

Примечание – для указанных (*) генотипов, отобранных из линий Л#-ХСР приведены каталожные номера образцов, из которых эти линии были выделены (Пюккенен, 2007).

Приложение 7 – Паспортные данные об образцах, ставших родоначальниками линий для эталонной коллекции по признаку скрещиваемости пшеницы с рожью

№ по каталогу ВИР	Название линии	Таксон	Название образца, из которого было отобрано растение (генотип), (жирным – гетерогенные образцы, прочерк – образцы без названия)	Страна происхождения образца	Разновидность	Год включения в коллекцию ВИР	Тип развития ¹	Статус ²
5158	НСПР-1	<i>T. aestivum</i>	Bushak	Индия	<i>turcicum</i>	1922	S	ТС
5504	НСПР-2	<i>T. aestivum</i>	Type No.9	Пакистан, Пенджаб	<i>pseudohostianum</i>	1922	S	ТС
5545	НСПР-3	<i>T. aestivum</i>	Lal of Batala	Индия, Махараштра	<i>pseudohostianum</i>	1922	S	ТС
5784	НСПР-4	<i>T. aestivum</i>	Colorado 50	США, Колорадо	<i>albidum</i>	1922	S	ТС
7911	НСПР-5	<i>T. aestivum</i>	—	Монголия, Туве	<i>ferrugineum</i>	1923	S	ТС
22308	НСПР-6	<i>T. aestivum</i>	Lyallpur 9	Индия, Уттар-Прадеш	<i>pseudobarbarossa, pseudohostianum</i>	1928	S	ТС
23797	НСПР-7	<i>T. aestivum</i>	Punjab Tipe 19	Пакистан, Пенджаб	<i>albirubrum</i>	1928	S	ТС
25665	НСПР-8	<i>T. aestivum</i>	Hope	США, Южная Дакота	<i>erythrospermum</i>	1929	S	УС
30137	НСПР-9	<i>T. aestivum</i>	Балаганка	Россия, Иркутская обл.	<i>ferrugineum</i>	1934	S	УС
37320	НСПР-10	<i>T. aestivum</i>	Ледовка	Беларусь, Минская обл.	<i>erythrospermum</i>	1940	S	ТС
37393	НСПР-11	<i>T. aestivum</i>	—	Россия, Карачаево-Черкессия	<i>erythrospermum</i>	1940	S	ТС
41989	НСПР-12	<i>T. aestivum</i>	Acadia	Канада, Саскачеван	<i>erythrospermum</i>	1957	S	УС
43099	НСПР-13	<i>T. aestivum</i>	Red Bobs 222	Канада, Альберта	<i>lutescens</i>	1958	S	УС
49878	НСПР-14	<i>T. aestivum</i>	Maris Hobbit	Великобритания, Англия	<i>lutescens</i>	1975	W	УС
52950	НСПР-15	<i>T. aestivum</i>	Moro of Sind	Пакистан, Синд	<i>leucospermum</i>	1973	S	ТС
65503	НСПР-16	× <i>Aegilotriticum</i>	LCK59.61/ <i>Ae. tauschii</i> (WX313; TA2460)	Мексика	—	2006	S	СМ
42445	НСПР-17	<i>T. aestivum</i>	(Jing-yang 302) → Л6-ХСР	Китай, Шэньси (пров.)	<i>graecum</i>	(1957) → 2007	W	УС
65494	НСПР-18	× <i>Aegilotriticum</i>	68.111/RGB-U//WARD/3/ <i>Ae. tauschii</i> (WX326; TA2475)	Мексика	—	2006	S	СМ
65517	НСПР-19	× <i>Aegilotriticum</i>	CETA/ <i>Ae. tauschii</i> (WX1027)	Мексика	—	2006	S	СМ
52950	НСПР-20	<i>T. aestivum</i>	Moro of Sind	Пакистан, Синд	<i>leucospermum</i>	1973	S	ТС
33785	НСПР-21	<i>T. aestivum</i>	Mara	Чехословакия до 1992 г.	<i>lutescens</i>	1936	W	УС

Продолжение приложения 7

№ по каталогу ВИР	Название линии	Таксон	Название образца, из которого было отобрано растение (генотип), (жирным – гетерогенные образцы, прочерк – образцы без названия)	Страна происхождения образца	Разновидность	Год включения в коллекцию ВИР	Тип развития ¹	Статус ²
65757	НСПР-22	<i>T. aestivum</i>	Немчиновская 24	Россия, Московская обл.	<i>lutescens</i>	2015	W	УС
45291	НСПР-23	<i>T. aestivum</i>	Lancer	США	<i>erythrospermum</i>	1966	W	УС
50738	НСПР-24	<i>T. aestivum</i>	Courtot	Франция	<i>erythrospermum</i>	1976	W	УС
41764	НСПР-25	<i>T. aestivum</i>	Klein Sin Pival	Аргентина, Буэнос-Айрес	<i>caesium</i>	1955	S	УС
43920	НСПР-26	<i>T. aestivum</i>	Мироновская 808	Украина, Киевская обл.	<i>lutescens</i>	1963	W	УС
35841	НСПР-27	<i>T. aestivum</i>	Cheyenne	США	<i>erythrospermum</i>	1938	W	УС
65514	ВСПР-1	× <i>Aegilotriticum</i>	CROC 1/ <i>Ae. tauschii</i> (WX517)	Мексика	—	2006	S	СМ
42445	ВСПР-2	<i>T. aestivum</i>	(Jing-yang 302) → Л6-ХСР	Китай, Шэньси (пров.)	<i>graecum</i>	(1957) → 2007	W	УС
23808	ВСПР-3	<i>T. aestivum</i>	Punjab Tipe 23	Пакистан, Пенджаб	<i>milturum</i>	1928	S	ТС
65492	ВСПР-4	× <i>Aegilotriticum</i>	ACO89/ <i>Ae. tauschii</i> (WX309; TA2454)	Мексика	—	2006	S	СМ
14960	ВСПР-5	<i>T. aestivum</i>	8B	Пакистан	<i>pseudoturcicum</i>	1926	S	ТС
65506	ВСПР-6	× <i>Aegilotriticum</i>	YAR/ <i>Ae. tauschii</i> (WX518)	Мексика	—	2006	S	СМ
7997	ВСПР-7	<i>T. aestivum</i>	—	Монголия, Говь-Алтай	<i>hostianum</i>	1923	S	ТС
12352	ВСПР-8	<i>T. aestivum</i>	—	Афганистан, Бадгис	<i>erythrospermum</i>	1925	S	ТС
41668	ВСПР-9	<i>T. aestivum</i>	(Ga-da-cao) → Л8-ХСР	Китай, Хэнань (пров.)	<i>barbarossa</i>	(1956) → 2007	W	УС
23806	ВСПР-10	<i>T. aestivum</i>	Punjab Tipe 8a	Пакистан, Пенджаб	<i>turcicum</i>	1928	S	ТС
38587	ВСПР-11	<i>T. aestivum</i>	Сибирка Ярцевская	Россия, Красноярский край	<i>ferrugineum</i> <i>sibiricum</i>	1947	S	ТС
29045	ВСПР-12	<i>T. aestivum</i>	(Q4) → Л33-ХСР	Китай, Цзянси (пров.)	<i>erythrospermum</i>	(1932) → 2007	S	ТС
62782	ВСПР-13	<i>T. aestivum</i>	(Si-yue-huang) → Л42-ХСР	Китай, Сычуань (пров.)	<i>erythtoleucon</i>	(1998) → 2007	W	УС
65504	ВСПР-14	× <i>Aegilotriticum</i>	LCK59.61/ <i>Ae. tauschii</i> (WX324; TA2473)	Мексика	—	2006	S	СМ
41889	ВСПР-15	<i>T. aestivum</i>	Bage	Бразилия, Рио-Гранди-ду-Сул	<i>erythrospermum</i> , <i>ferrugineum</i>	1956	S	УС
51371	ВСПР-16	<i>T. aestivum</i>	Norin 16	Япония, Гумма	<i>erythrospermum</i>	1976	W	УС

Продолжение приложения 7

№ по каталогу ВИР	Название линии	Таксон	Название образца, из которого было отобрано растение (генотип), (жирным – гетерогенные образцы, прочерк – образцы без названия)	Страна происхождения образца	Разновидность	Год включения в коллекцию ВИР	Тип развития ¹	Статус ²
41653	ВСПР-17	<i>T. aestivum</i>	(Ming-xiang 169) → Л10-ХСР	Китай, Шаньси (пров.)	<i>graecum</i>	(1956) → 2007	W	УС
43276	ВСПР-18	<i>T. aestivum</i>	(—) → Л27-ХСР	Китай, Синьцзян-Уйгурский (авт. район)	<i>graecum</i>	(1960) → 2007	W	ТС
38587	ВСПР-19	<i>T. aestivum</i>	Сибирка Ярцевская	Россия, Красноярский край	<i>ferrugineum sibiricum</i>	1947	S	ТС
28573	ВСПР-20	<i>T. aestivum</i>	I 11	Китай, Шэньси (пров.)	<i>population</i>	1932	I	ТС
65496	ВСПР-21	× <i>Aegilotriticum</i>	68.111/RGB-U//WARD/3/ <i>Ae. tauschii</i> (WX629)	Мексика	—	2006	S	СМ
59275	ВСПР-22	<i>T. aestivum</i>	Линия 421	Россия, Лен. обл.	<i>lutescens</i>	1988	W	СМ
29045	ВСПР-23	<i>T. aestivum</i>	(Q4) → Л33-ХСР	Китай, Цзянси (пров.)	<i>erythrospermum</i>	(1932) → 2007	S	ТС
65516	ВСПР-24	× <i>Aegilotriticum</i>	DVERD 2/ <i>Ae. tauschii</i> (WX1027)	Мексика	—	2006	S	СМ
14958	ВСПР-25	<i>T. aestivum</i>	8A	Пакистан	<i>turcicum</i>	1926	S	ТС
28695	ВСПР-26	<i>T. aestivum</i>	(291) → Л30-ХСР	Китай, Сычуань (пров.)	<i>rufinflatum</i>	(1932) → 2007	S	ТС
28574	ВСПР-27	<i>T. aestivum</i>	(I12) → Л35-ХСР	Китай, Шаньси (пров.)	<i>rufinflatum</i>	(1932) → 2007	S	ТС
61277	ВСПР-28	<i>T. aestivum</i>	(Shi 70-22) → Л5-ХСР	Китай	<i>graecum</i>	(1991) → 2007	W	СМ
8034	ВСПР-29	<i>T. aestivum</i>	—	Монголия, Хувсгел	<i>albirubrum, erythrospermum, ferrugineum</i>	1923	S	ТС
42990	ВСПР-30	<i>T. aestivum</i>	(Cao-chang-hong-mie) → Л40-ХСР	Китай, Хунань (пров.)	<i>erythrospermum, ferrugineum</i>	(1958) → 2007	W	ТС
62899	ВСПР-31	<i>T. aestivum</i>	(Nanjing University Early 1) → Л32- ХСР	Китай	<i>ferrugineum</i>	(1992) → 2007	S	СМ
24961	ВСПР-32	<i>T. aestivum</i>	Akadaruma	Япония, Канагава	<i>milturum</i>	1929	S	ТС
62778	ВСПР-33	<i>T. aestivum</i>	(Fan-shan-xiao-mai) → Л18-ХСР	Китай, Цзянсу (пров.)	<i>milturum</i>	(1998) → 2007	W	УС
42453	ВСПР-34	<i>T. aestivum</i>	(Hong-cun-mai) → Л24-ХСР	Китай, Шаньдун (пров.)	<i>erithrospermum</i>	(1957) → 2007	W	ТС
28600	ВСПР-35	<i>T. aestivum</i>	(I 39) → Л1-ХСР	Китай, Шэньси (пров.)	<i>suberythroleucon</i>	(1931) → 2007	W	ТС

Продолжение приложения 7

№ по каталогу ВИР	Название линии	Таксон	Название образца, из которого было отобрано растение (генотип), (жирным – гетерогенные образцы, прочерк – образцы без названия)	Страна происхождения образца	Разновидность	Год включения в коллекцию ВИР	Тип развития ¹	Статус ²
28681	ВСПР-36	<i>T. aestivum</i>	(O6(c)) → Л37-ХСР	Китай, Сычуань (пров.)	<i>lutinflatum</i>	(1932) → 2007	S	ТС
42990	ВСПР-37	<i>T. aestivum</i>	(Cao-chang-hong-mie) → Л3-ХСР	Китай, Хунань (пров.)	<i>erythrospermum, ferrugineum</i>	(1958) → 2007	W	ТС
42990	ВСПР-38	<i>T. aestivum</i>	(Cao-chang-hong-mie) → Л3-ХСР	Китай, Хунань (пров.)	<i>erythrospermum, ferrugineum</i>	(1958) → 2007	W	ТС
62541	ВСПР-39	<i>T. aestivum</i>	(Long-Mai 12) → Л31-ХСР	Китай, Хэйлунцзян (пров.)	<i>erythrospermum</i>	(1990) → 2007	S	УС
41563	ВСПР-40	<i>T. aestivum</i>	(Ding-xian 72) → Л9-ХСР	Китай, Хэбэй (пров.)	<i>lutescens</i>	(1956) → 2007	W	УС
42512	ВСПР-41	<i>T. aestivum</i>	(Wu-mang-xiao-mai) → Л41-ХСР	Китай, Хэнань (пров.)	<i>milturum</i>	(1957) → 2007	W	ТС
41675	ВСПР-42	<i>T. aestivum</i>	(Hong-mang-mai) → Л21-ХСР	Китай, Хэнань (пров.)	<i>erythrospermum</i>	(1956) → 2007	W	УС
62749	ВСПР-43	<i>T. aestivum</i>	(Chang-shu-tong-zhu-tou) → Л16-ХСР	Китай, Цзянсу (пров.)	<i>lutescens</i>	(1998) → 2007	W	УС
41520	ВСПР-44	<i>T. aestivum</i>	(—) → Л11-ХСР	Китай	<i>erythrospermum</i>	(1955) → 2007	W	ТС
61292	ВСПР-45	<i>T. aestivum</i>	(Hong-dong-mai) → Л14-ХСР	Китай	<i>subferrugineum, suberythrospermu m</i>	(1991) → 2007	W	УС
42912	ВСПР-46	<i>T. aestivum</i>	(Shi-te 14) → Л12-ХСР	Китай, Хэбэй (пров.)	<i>subgraecum</i>	(1958) → 2007	W	УС
61285	ВСПР-47	<i>T. aestivum</i>	(Xiao-hu-lu-tuo) → Л23-ХСР	Китай	<i>albidum</i>	(1991) → 2007	W	УС
46119	ВСПР-48	<i>T. aestivum</i>	(Bi-ma 4) → Л19-ХСР	Китай, Шэньси (пров.)	<i>graecum</i>	(1970) → 2007	W	УС
59277	ВСПР-49	<i>T. aestivum</i>	Линия 430	Россия, Лен. обл.	<i>lutescens</i>	1988	W	СМ
43080	ВСПР-50	<i>T. aestivum</i>	Chinese Spring	Китай	<i>lutescens</i>	1959	S	УС
28804	ВСПР-51	<i>T. aestivum</i>	(A 95) → Л22-ХСР	Китай, Цзянси (пров.)	<i>milturum, lutescens</i>	(1932) → 2007	W	ТС

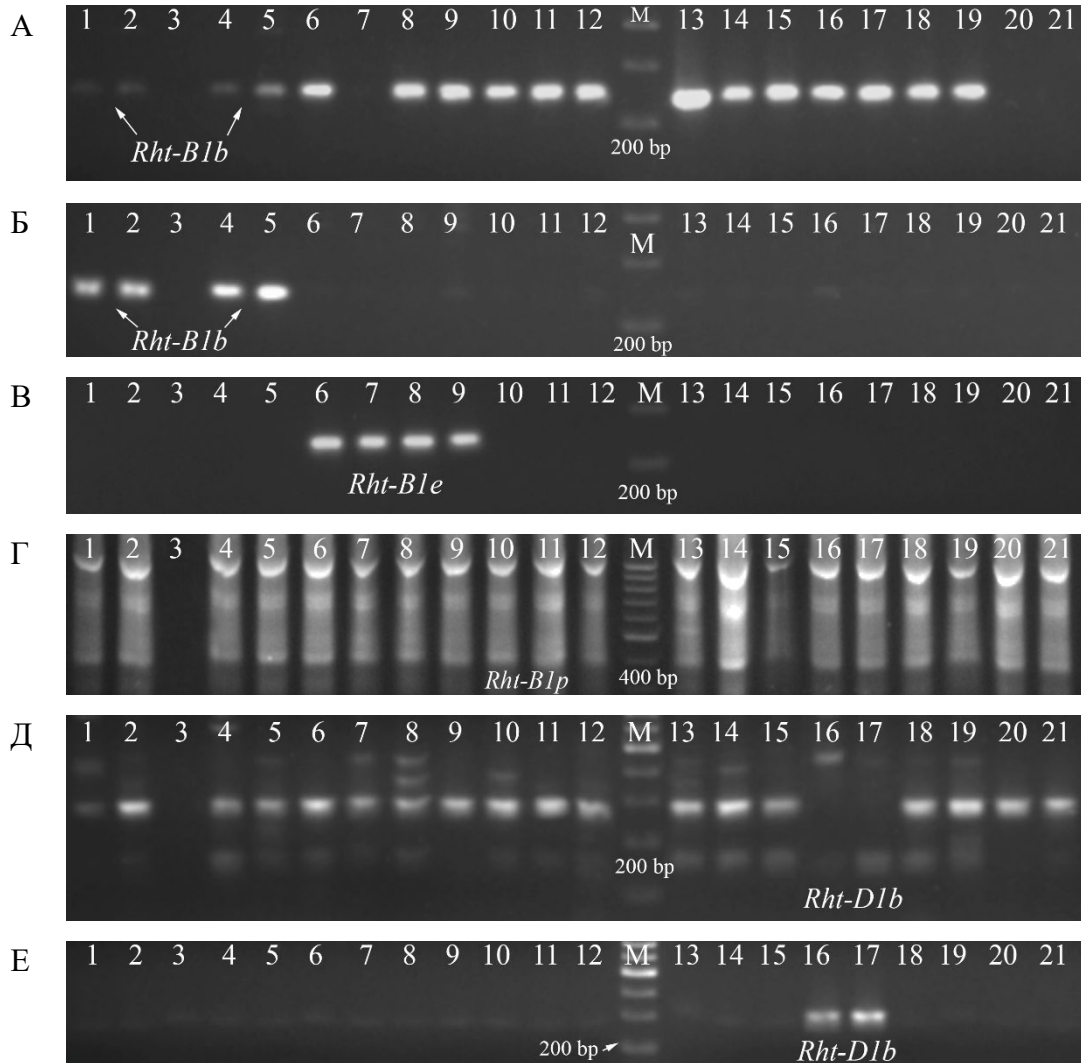
Примечания: 1 – указан тип развития: S – Яровой (Spring), W – Озимый (Winter), I – Факультативный (Intermediate).
2 – СМ – Селекционный/исследовательский материал (Breedin/research material), ТС – Традиционный/стародавний сорт (Traditional cultivar/landrace), УС – Улучшенный сорт (Advanced/improved cultivar)

Приложение 8 – Характеристика изученных аллелей генов *Rht-B1* и *Rht-D1* мягкой пшеницы

Ген	Аллель	Мутация	Литературный источник	Используемые в исследовании последовательности (# в Генбанке NCBI)
Хромосома 4A				
<i>Rht-A1</i>	<i>Rht-A1a</i>	Дикий тип	Peng et al, 1999	CS (RefSeq v2.1)
Хромосома 4BS				
<i>Rht-B1</i>	<i>Rht-B1a</i>	Дикий тип	Peng et al, 1999; Pearce et al., 2011; Wilhelm et al., 2013	CS (RefSeq v2.1); JF930278; KC614609
	<i>Rht-B1b</i>	₁₉₀ C→T	Peng et al, 1999; Wilhelm et al., 2013	JX993605; KC614617; KC614616
	<i>Rht-B1e</i>	₁₈₁ A→T	Pearce et al., 2011; Divashuk et al., 2012; Li et al., 2012; Wilhelm et al., 2013	JF930280; JX993606; FM878945
	<i>Rht-B1p</i>	₁₇₈ C→T	Bazhenov et al., 2015	KT013263
	<i>Rht-B1c</i>	₋₅₉₂ T ↓ _{197 п.н.} C; ₄₃ G→C; ₇₅ G→A; ₁₅₀ G ↓ _{2026 п.н.} C; ₇₂₃ A→G	Pearce et al., 2011; Wu et al., 2011; Wen et al., 2013; Li et al., 2013	JF930279; JN857970; KC767926
	<i>Rht-B1h</i>	₋₅₉₂ T ↓ _{197 п.н.} C; ₄₃ G→C; ₇₅ G→A; ₇₂₃ A→G	Li et al., 2013	FR668587
	<i>Rht-B1i-1</i>	₋₃₆₆ A ↓ _{160 п.н.} T; ₆₁₄ A→G	Li et al., 2013; Lou et al., 2016	LN907869; LN907870; LN907871
Хромосома 4DS				
<i>Rht-D1</i>	<i>Rht-D1a</i>	Дикий тип	Peng et al, 1999; Elis et al., 2002; Wilhelm et al., 2013	CS (RefSeq v2.1); KC614631; KC614632.1
	<i>Rht-D1b</i>	₁₈₁ G→T	Peng et al, 1999; Wilhelm et al., 2013	KC614644; KC614642; KC614646

Примечание – при обозначении мутаций числа слева соответствуют положению в нуклеотидной последовательности гена или промоторной области

Приложение 9 – Апробация аллель-специфичных маркеров для аллелей генов *Rht-B1* и *Rht-D1*, несущих нонсенс мутации. А, Б – идентификация аллеля *Rht-B1b* (праймеры BF/WR1 и BF/MR1). В – идентификация аллеля *Rht-B1e* (праймеры BF/MR3). Г – идентификация аллеля *Rht-B1p* (праймеры Rht-B1p-F/Rht-B1-R1). Д, Е – идентификация *Rht-D1b* (праймеры DF2/WR2 и DF/MR2). Цифрами обозначены образцы с различными аллелями генов *Rht-B1* и *Rht-D1*: 1, 2 – Красота (аллель *Rht-B1b*, *Rht-D1a*); 3 – отрицательный контроль (H₂O); 4, 5 – Княжна (*Rht-B1b*, *Rht-D1a*); 6, 7 – Гром (*Rht-B1e*, *Rht-D1a*); 8, 9 – Веда (*Rht-B1e*, *Rht-D1a*); 10, 11 – Chris Mutant (*Rht-B1p*, *Rht-D1a*); 12, 13 – Триумф (*Rht-B1i-1*, *Rht-D1a*); 14, 15 – Chinese Spring (дикий тип); 16, 17 – Zheng 9023 (*Rht-B1h*, *Rht-D1b*); 18, 19 – Atlas 66 (*Rht-B1h*, *Rht-D1a*); 20, 21 – Tom Thumb (*Rht-B1c*, *Rht-D1a*). М – маркер молекулярного веса «100 bp+1.5 Kb+3 Kb» (СибЭнзим, Россия).



Приложение 10 – Характеристика 78 линий эталонной коллекции по аллельному составу локусов, расположенных вблизи генов *SKr* и *KrI*

Название линии	Название растений (генотипов), отобранных для закладки линий (жирным – СГП)	Скрещиваемость с рожью (в %)	№ исходного образца по каталогу ВИР	Происхождение (по ISO 3166-1)	Выявленные аллели (п.н.) локусов												
					хромосома 5BS									хромосома 5BL			
					локусы, сцепленные с <i>SKr</i>					<i>cfb382</i>	<i>Xvir1</i>	<i>Xvir3</i>	<i>Xvir9</i>	<i>Xvir10</i>	<i>Xgwm213</i>	<i>Xvir12</i>	<i>Xvir14</i>
					<i>cfb341</i>	<i>gene12</i>	<i>TGlc2</i>	<i>gene13</i>	гаплотип								
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Линии с низкой скрещиваемостью с рожью посевной																	
НСПР-1	Bushak (p.2)	0,0	5158	IND	168	391	288	456	#7	200	200	267	199	299	202	281	236
НСПР-2	Type No.9 (p.1)	0,0	5504	PAK	168	391	288	456	#7	200	200	263	203	299	210	287	242
НСПР-3	Lal of Batala (p.2)	0,0	5545	IND	168	391	288	456	#7	200	200	263	199	299	200	281	236
НСПР-4	Colorado 50 (p.5)	0,0	5784	USA	176	391	291	456	#1	196	203	263	199	305	172	284	224
НСПР-5	к-7911 (p.2)	0,0	7911	MNG	135	0	256	421	#8	0	0	223	199	305	190	299	227
НСПР-6	Lyallpur 9 (p.2)	0,0	22308	IND	168	391	288	456	#7	200	200	263	199	299	204	278	236
НСПР-7	Punjab Tipe 19 (p.2)	0,0	23797	PAK	151	342	268	451	#9	196	206	263	199	299	208	281	236
НСПР-8	Норе (p.3)	0,0	25665	USA	176	391	291	456	#1	198	203	263	199	305	168	290	227
НСПР-9	Балаганка (p.3)	0,0	30137	RUS	163	342	279	451	#2	200	206	263	199	299	160	293	245
НСПР-10	Ледовка (p.6)	0,0	37320	BLR	163	342	279	451	#2	200	206	263	199	305	178	281	224
НСПР-11	к-37393 (p.6)	0,0	37393	RUS	163	342	279	451	#2	196	206	263	187	299	192	278	227
НСПР-12	Acadia (p.6)	0,0	41989	CAN	176	391	291	456	#1	204	200	263	199	305	172	284	224
НСПР-13	Red Bobs 222 (p.3)	0,0	43099	CAN	176	391	291	456	#1	196	203	263	199	305	170	284	224
НСПР-14	Maris Hobbit (p.3)	0,0	49878	GBR	163	342	279	451	#2	194	206	263	195	299	174	284	218
НСПР-15	Moro of Sind (p.1)	0,0	52950	PAK	168	391	288	456	#7	200	200	267	199	299	206	278	236
НСПР-16	к-65503 (p.3)	0,0	65503	MEX	163	342	279	451	#2	234	203	247	199	305	168	293	224
НСПР-17	Л6-ХСР (p.1)	0,0	69062	CHN	163	342	279	451	#2	198	206	263	203	299	184	284	224
НСПР-18	к-65494 (p.2)	0,0	65494	MEX	176	391	291	456	#1	200	200	267	199	305	168	293	224
НСПР-19	к-65517 (p.2)	0,0	65517	MEX	176	391	291	456	#1	208	200	263	199	299	198	284	245
НСПР-20	Moro of Sind (p.2)	1,4	52950	PAK	151	342	268	451	#9	196	206	263	199	299	210	293	242
НСПР-21	Mara (p.1)	2,0	33785	CSK	176	391	291	456	#1	198	200	263	199	305	178	281	224
НСПР-22	Немчиновская 24 (p.3)	2,0	65757	RUS	163	342	279	456	#6	200	200	263	199	305	148	290	230
НСПР-23	Lancer (p.1)	6,0	45291	USA	176	391	291	456	#1	202	200	263	199	299	162	281	245
НСПР-24	Courtot (p.1)	7,0	50738	FRA	163	342	279	451	#2	200	206	263	199	305	148	284	218

Продолжение приложения 10

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
НСПР-25	Klein Sin Pival (p.4)	7,1	41764	ARG	163	342	279	451	#2	200	206	263	199	305	176	278	227
НСПР-26	Мироновская 808 (p. 1)	7,1	43920	UKR	163	342	279	451	#2	194	206	263	199	305	148	290	230
НСПР-27	Cheyenne (p.1)	9,1	35841	USA	176	391	291	456	#1	204	200	263	199	305	148	290	230
Линии с высокой скрещиваемостью с рожью посевной																	
ВСПР-1	к-65514 (p.1)	25,0	65514	MEX	176	391	291	456	#1	208	200	263	195	299	154	278	224
ВСПР-2	Л6-ХСР (p.2)	25,0	69062	CHN	176	391	291	451	#3	202	212	263	199	305	176	281	224
ВСПР-3	Punjab Tipe 23 (p.2)	30,0	23808	PAK	168	391	288	456	#7	196	200	263	199	299	232	287	248
ВСПР-4	к-65492 (p.1)	31,7	65492	MEX	176	391	291	456	#1	210	200	263	199	299	210	278	245
ВСПР-5	8В (p.2)	33,3	14960	PAK	168	391	288	456	#7	200	200	267	199	299	202	281	236
ВСПР-6	к-65506 (p.1)	35,5	65506	MEX	176	391	291	456	#1	212	200	263	199	299	210	278	245
ВСПР-7	к-7997 (p.2)	35,7	7997	MNG	176	391	291	456	#1	198	200	263	199	299	192	296	248
ВСПР-8	к-12352 (p.2)	35,7	12352	AFG	176	320	291	451	#11	196	203	263	199	299	188	296	257
ВСПР-9	Л8-ХСР (p.1)	35,7	69064	CHN	176	391	291	451	#3	200	212	263	203	299	178	290	245
ВСПР-10	Punjab Tipe 8a (p.1)	37,5	23806	PAK	168	391	288	456	#7	200	200	267	199	299	202	281	236
ВСПР-11	Сибирка Ярцевская (p.1)	37,5	38587	RUS	163	342	279	451	#2	200	206	263	199	305	194	299	227
ВСПР-12	Л33-ХСР (p.1)	40,0	29045	CHN	176	391	291	456	#1	198	200	263	203	299	194	281	245
ВСПР-13	Л42-ХСР (p.1)	40,0	62782	CHN	176	320	291	451	#11	196	203	263	203	299	172	287	245
ВСПР-14	к-65504 (p.1)	40,3	65504	MEX	163	342	279	451	#2	234	203	247	199	299	198	284	245
ВСПР-15	Bage (p.1)	41,7	41889	BRA	176	391	291	456	#1	196	200	263	199	305	178	278	227
ВСПР-16	Norin 16 (p.3)	41,7	51371	JPN	176	391	291	456	#1	198	200	263	203	299	192	281	248
ВСПР-17	Л10-ХСР (p.1)	43,8	69066	CHN	176	391	291	451	#3	200	212	263	203	299	188	284	248
ВСПР-18	Л27-ХСР (p.1)	44,0	69077	CHN	176	391	291	456	#1	198	200	263	203	299	222	287	254
ВСПР-19	Сибирка Ярцевская (p.2)	45,5	38587	RUS	135	0	256	421	#8	0	0	223	199	305	194	299	227
ВСПР-20	Л11 (p.5)	47,0	28573	CHN	176	391	291	451	#3	200	212	263	199	299	200	284	254
ВСПР-21	к-65496 (p.1)	47,9	65496	MEX	176	391	291	456	#1	196	200	263	195	299	154	278	224
ВСПР-22	Линия 421 (p.1)	49,5	59275	CHN	176	391	291	456	#1	196	200	263	203	299	186	287	248
ВСПР-23	Л33-ХСР (p.2)	50,0	29045	CHN	176	391	291	451	#3	196	212	263	199	299	196	284	251
ВСПР-24	к-65516 (p.1)	51,8	65516	MEX	176	391	291	456	#1	196	203	263	195	299	154	278	224
ВСПР-25	8А (p.3)	52,6	14958	PAK	168	391	288	456	#7	200	200	267	199	299	202	281	236
ВСПР-26	Л30-ХСР (p.4)	52,6	28695	CHN	176	391	291	456	#1	198	200	263	195	299	154	287	248
ВСПР-27	Л35-ХСР (p.3)	55,6	28574	CHN	176	391	291	456	#1	200	200	263	195	299	154	284	248
ВСПР-28	Л5-ХСР (p.1)	56,0	69061	CHN	176	391	291	456	#1	198	200	263	195	299	174	284	218
ВСПР-29	к-8034 (p.2)	56,3	8034	MNG	181	391	300	456	#12	194	200	263	199	299	164	299	248

Продолжение приложения 10

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
ВСПР-30	Л40-ХСР (p.1)	57,1	42990	CHN	176	391	291	456	#1	198	200	263	203	299	220	287	254
ВСПР-31	Л32-ХСР (p.3)	58,3	62899	CHN	176	391	291	451	#3	198	212	263	203	299	176	284	224
ВСПР-32	Akadaruma (p.3)	62,5	24961	JPN	176	391	291	456	#1	200	200	263	203	299	196	284	248
ВСПР-33	Л18-ХСР (p.1)	62,5	69071	CHN	176	391	291	456	#1	198	200	263	199	299	162	296	245
ВСПР-34	Л24-ХСР (p.1)	63,6	69075	CHN	176	391	291	451	#3	200	212	263	203	299	204	290	248
ВСПР-35	Л11-ХСР (p.1)	64,3	69057	CHN	176	391	291	456	#1	196	200	263	203	299	192	290	254
ВСПР-36	Л37-ХСР (p.4)	68,8	28681	CHN	176	391	291	456	#1	198	200	263	199	299	228	287	257
ВСПР-37	Л3-ХСР (p.1)	69,0	69059	CHN	176	391	291	456	#1	198	200	263	191	299	220	290	224
ВСПР-38	Л3-ХСР (p.2)	72,2	69059	CHN	176	391	291	451	#3	200	212	263	203	299	188	287	248
ВСПР-39	Л31-ХСР (p.1)	75,0	62541	CHN	176	391	291	456	#1	196	200	263	199	305	176	284	224
ВСПР-40	Л9-ХСР (p.1)	75,0	69065	CHN	176	391	291	456	#1	200	200	263	199	299	160	299	248
ВСПР-41	Л41-ХСР (p.2)	75,0	69078	CHN	176	391	291	456	#1	198	200	263	203	299	194	284	248
ВСПР-42	Л21-ХСР (p.2)	77,0	69072	CHN	176	391	291	456	#1	198	200	263	203	299	194	290	254
ВСПР-43	Л16-ХСР (p.2)	80,0	69070	CHN	176	391	291	456	#1	198	200	263	203	299	174	284	248
ВСПР-44	Л11-ХСР (p.1)	81,3	69067	CHN	176	391	291	451	#3	196	212	263	203	299	200	293	248
ВСПР-45	Л14-ХСР (p.3)	81,3	69068	CHN	176	391	291	451	#3	200	212	263	203	299	162	293	251
ВСПР-46	Л12-ХСР (p.1)	85,0	42912	CHN	176	391	291	456	#1	198	200	263	203	299	200	281	248
ВСПР-47	Л23-ХСР (p.1)	90,0	69074	CHN	176	391	291	456	#1	200	200	263	203	299	172	290	251
ВСПР-48	Л19-ХСР (p.3)	92,0	46119	CHN	176	391	291	456	#1	196	200	263	199	305	172	284	224
ВСПР-49	Линия 430 (p.2)	93,3	59277	CHN	176	391	291	456	#1	196	200	263	199	305	148	290	230
ВСПР-50	Chinese Spring (p.3)	93,8	43080	CHN	176	391	291	456	#1	196	200	263	203	299	184	287	248
ВСПР-51	Л22-ХСР (p.2)	93,8	69073	CHN	163	391	279	451	#5	196	212	263	203	299	176	284	248

Примечание – темно-серой и светло-серой заливкой обозначены аллели, ассоциированные с высокой или низкой скрещиваемостью с рожью, соответственно.

Приложение 11 – Характеристика 78 линий эталонной коллекции по аллельному составу генов *Rht-B1*, *Rht-D1*, *Vrn1* и *Ppd-D1*

Название линии	Название растений (генотипов), отобранных для закладки линий (жирным – СГП)	Скрещиваемость с рожью (в %)	№ исходного образца по каталогу ВИР	Происхождение (по ISO 3166-1)	Тип развития ¹	<i>Rht-B1</i> ²	<i>Rht-D1</i> ²	<i>Vrn-A1</i> ²	<i>Vrn-B1</i> ²	<i>Vrn-D1</i> ²	<i>Ppd-D1</i> ²
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Линии с низкой скрещиваемостью с рожью посевной											
НСПР-1	Bushak (p.2)	0,0	5158	IND	S	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b</i> '414
НСПР-2	Type No.9 (p.1)	0,0	5504	PAK	S	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>Vrn-D1a</i>	<i>Ppd-D1b</i> '414
НСПР-3	Lal of Batala (p.2)	0,0	5545	IND	S	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b</i> '414
НСПР-4	Colorado 50 (p.5)	0,0	5784	USA	S	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>Vrn-A1a</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>Vrn-D1a</i>	<i>Ppd-D1b</i> '414
НСПР-5	к-7911 (p.2)	0,0	7911	MNG	S	<i>Rht-B1i-1</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>Vrn-A1a</i>	<i>Vrn-B1c</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b</i> '414
НСПР-6	Lyallpur 9 (p.2)	0,0	22308	IND	S	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b</i> '414
НСПР-7	Punjab Tipe 19 (p.2)	0,0	23797	PAK	S	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b</i> '414
НСПР-8	Hope (p.3)	0,0	25665	USA	S	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>Vrn-A1a</i>	<i>Vrn-B1a</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b</i> '414
НСПР-9	Балаганка (p.3)	0,0	30137	RUS	S	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>Vrn-A1a</i>	<i>Vrn-B1a</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b</i> '414
НСПР-10	Ледовка (p.6)	0,0	37320	BLR	S	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>Vrn-A1a</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b</i> '414
НСПР-11	к-37393 (p.6)	0,0	37393	RUS	S	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>Vrn-A1a</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b</i> '414
НСПР-12	Acadia (p.6)	0,0	41989	CAN	S	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>Vrn-A1a</i>	<i>Vrn-B1a</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b</i> '414
НСПР-13	Red Bobs 222 (p.3)	0,0	43099	CAN	S	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>Vrn-A1a</i>	<i>Vrn-B1c</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b</i> '414
НСПР-14	Maris Hobbit (p.3)	0,0	49878	GBR	W	<i>Rht-B1h</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b</i> '414
НСПР-15	Moro of Sind (p.1)	0,0	52950	PAK	S	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>Vrn-A1b</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b</i> '414
НСПР-16	к-65503 (p.3)	0,0	65503	MEX	S	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>Vrn-A1c</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b</i> '429
НСПР-17	Л6-ХСР (p.1)	0,0	69062	CHN	W	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>Vrn-D1b</i>	<i>Ppd-D1b</i> '414
НСПР-18	к-65494 (p.2)	0,0	65494	MEX	S	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>Vrn-A1c</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b</i> '453
НСПР-19	к-65517 (p.2)	0,0	65517	MEX	S	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>Vrn-A1c</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b</i> '453
НСПР-20	Moro of Sind (p.2)	1,4	52950	PAK	S	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b</i> '414
НСПР-21	Mara (p.1)	2,0	33785	CSK	W	<i>Rht-B1i-1</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b</i> '414
НСПР-22	Немчиновская 24 (p.3)	2,0	65757	RUS	W	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1a</i>
НСПР-23	Lancer (p.1)	6,0	45291	USA	W	<i>Rht-B1i-1</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b</i> '414
НСПР-24	Courtot (p.1)	7,0	50738	FRA	W	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1b</i>	<i>Vrn-A1b</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b</i> '414

Продолжение приложения 11

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
НСПР-25	Klein Sin Pival (p.4)	7,1	41764	ARG	S	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>Vrn-A1b</i>	<i>Vrn-B1a</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b'414</i>
НСПР-26	Мироновская 808 (p. 1)	7,1	43920	UKR	W	<i>Rht-B1i-1</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b'414</i>
НСПР-27	Cheyenne (p.1)	9,1	35841	USA	W	<i>Rht-B1i-1</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b'414</i>
Линии с высокой скрещиваемостью с рожью посевной											
ВСПР-1	к-65514 (p.1)	25,0	65514	MEX	S	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>Vrn-A1c</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b'429</i>
ВСПР-2	Л16-ХСР (p.2)	25,0	69062	CHN	W	<i>Rht-B1i-1</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1a</i>
ВСПР-3	Punjab Tipe 23 (p.2)	30,0	23808	PAK	S	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b'414</i>
ВСПР-4	к-65492 (p.1)	31,7	65492	MEX	S	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>Vrn-A1c</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b'453</i>
ВСПР-5	8В (p.2)	33,3	14960	PAK	S	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b'414</i>
ВСПР-6	к-65506 (p.1)	35,5	65506	MEX	S	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>Vrn-A1c</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b'453</i>
ВСПР-7	к-7997 (p.2)	35,7	7997	MNG	S	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>Vrn-D1a</i>	<i>Ppd-D1b'414</i>
ВСПР-8	к-12352 (p.2)	35,7	12352	AFG	S	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b'414</i>
ВСПР-9	Л18-ХСР (p.1)	35,7	69064	CHN	W	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b'414</i>
ВСПР-10	Punjab Tipe 8a (p.1)	37,5	23806	PAK	S	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b'414</i>
ВСПР-11	Сибирка Ярцевская (p.1)	37,5	38587	RUS	S	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>Vrn-A1a</i>	<i>Vrn-B1a</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b'414</i>
ВСПР-12	Л33-ХСР (p.1)	40,0	29045	CHN	S	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>Vrn-D1a</i>	<i>Ppd-D1a</i>
ВСПР-13	Л42-ХСР (p.1)	40,0	62782	CHN	W	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b'414</i>
ВСПР-14	к-65504 (p.1)	40,3	65504	MEX	S	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>Vrn-A1c</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b'453</i>
ВСПР-15	Bage (p.1)	41,7	41889	BRA	S	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>Vrn-A1a</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b'414</i>
ВСПР-16	Norin 16 (p.3)	41,7	51371	JPN	W	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1b</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>Vrn-D1b</i>	<i>Ppd-D1a</i>
ВСПР-17	Л10-ХСР (p.1)	43,8	69066	CHN	W	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b'414</i>
ВСПР-18	Л127-ХСР (p.1)	44,0	69077	CHN	W	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b'414</i>
ВСПР-19	Сибирка Ярцевская (p.2)	45,5	38587	RUS	S	<i>Rht-B1i-1</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>Vrn-A1a</i>	<i>Vrn-B1c</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b'414</i>
ВСПР-20	Л11 (p.5)	47,0	28573	CHN	I	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>Vrn-B1a</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1a</i>
ВСПР-21	к-65496 (p.1)	47,9	65496	MEX	S	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>Vrn-A1c</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b'453</i>
ВСПР-22	Линия 421 (p.1)	49,5	59275	CHN	W	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b'414</i>
ВСПР-23	Л33-ХСР (p.2)	50,0	29045	CHN	S	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b'414</i>
ВСПР-24	к-65516 (p.1)	51,8	65516	MEX	S	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>Vrn-A1a</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b'414</i>
ВСПР-25	8А (p.3)	52,6	14958	PAK	S	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b'414</i>
ВСПР-26	Л30-ХСР (p.4)	52,6	28695	CHN	S	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>Vrn-D1a</i>	<i>Ppd-D1b'414</i>
ВСПР-27	Л35-ХСР (p.3)	55,6	28574	CHN	S	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>Vrn-B1a</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b'414</i>
ВСПР-28	Л15-ХСР (p.1)	56,0	69061	CHN	W	<i>Rht-B1h</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>Vrn-D1b</i>	<i>Ppd-D1a</i>
ВСПР-29	к-8034 (p.2)	56,3	8034	MNG	S	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>Vrn-A1a</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b'414</i>

Продолжение приложения 11

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
ВСПР-30	Л40-ХСР (p.1)	57,1	42990	CHN	W	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b'414</i>
ВСПР-31	Л32-ХСР (p.3)	58,3	62899	CHN	S	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>Vrn-A1a</i>	<i>Vrn-B1a</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1a</i>
ВСПР-32	Akadaruma (p.3)	62,5	24961	JPN	S	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>Vrn-D1a</i>	<i>Ppd-D1a</i>
ВСПР-33	Л18-ХСР (p.1)	62,5	69071	CHN	W	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1a</i>
ВСПР-34	Л24-ХСР (p.1)	63,6	69075	CHN	W	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b'414</i>
ВСПР-35	Л11-ХСР (p.1)	64,3	69057	CHN	W	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1a</i>
ВСПР-36	Л37-ХСР (p.4)	68,8	28681	CHN	S	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>Vrn-D1a</i>	<i>Ppd-D1b'414</i>
ВСПР-37	Л3-ХСР (p.1)	69,0	69059	CHN	W	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b'414</i>
ВСПР-38	Л3-ХСР (p.2)	72,2	69059	CHN	W	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b'414</i>
ВСПР-39	Л31-ХСР (p.1)	75,0	62541	CHN	S	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>Vrn-A1a</i>	<i>Vrn-B1a</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1a</i>
ВСПР-40	Л9-ХСР (p.1)	75,0	69065	CHN	W	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b'414</i>
ВСПР-41	Л41-ХСР (p.2)	75,0	69078	CHN	W	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1a</i>
ВСПР-42	Л21-ХСР (p.2)	77,0	69072	CHN	W	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b'414</i>
ВСПР-43	Л16-ХСР (p.2)	80,0	69070	CHN	W	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>Vrn-D1b</i>	<i>Ppd-D1a</i>
ВСПР-44	Л11-ХСР (p.1)	81,3	69067	CHN	W	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>Vrn-D1b</i>	<i>Ppd-D1b'414</i>
ВСПР-45	Л14-ХСР (p.3)	81,3	69068	CHN	W	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1a</i>
ВСПР-46	Л12-ХСР (p.1)	85,0	42912	CHN	W	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>Vrn-D1b</i>	<i>Ppd-D1a</i>
ВСПР-47	Л23-ХСР (p.1)	90,0	69074	CHN	W	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b'414</i>
ВСПР-48	Л19-ХСР (p.3)	92,0	46119	CHN	W	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1a</i>
ВСПР-49	Линия 430 (p.2)	93,3	59277	CHN	W	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Ppd-D1b'414</i>
ВСПР-50	Chinese Spring (p.3)	93,8	43080	CHN	S	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>Vrn-D1a</i>	<i>Ppd-D1b'414</i>
ВСПР-51	Л22-ХСР (p.2)	93,8	69073	CHN	W	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn-B1</i>	<i>Vrn-D1b</i>	<i>Ppd-D1a</i>

Примечания: 1 – указан тип развития: S – Яровой (Spring), W – Озимый (Winter), I – Факультативный (Intermediate). 2 – жирным выделены аллели генов, отличные от аллелей дикого типа.