

ІДЕНТИФІКАЦІЯ ГЕНОТИПІВ З РЕКОМБІНАНТНИМ ПЛЕЧЕМ 1RS У ГІБРИДНИХ ПОПУЛЯЦІЯХ F₅ ПШЕНИЦІ М'ЯКОЇ ВІД СХРЕЩЕННЯ НОСІЇВ 1BL.1RS І 1AL.1RS

Н.О. КОЗУБ^{1,2}, І.О. СОЗІНОВ¹, Г.Я. БІДНИК^{1,2}, Н.О. ДЕМ'ЯНОВА^{1,2},
О.І. СОЗІНОВА^{1,2}, А.В. КАРЕЛОВ^{1,2}, О.І. БОРЗИХ¹, Я.Б. БЛЮМ²

¹ Інститут захисту рослин Національної академії аграрних наук України, 03022, Київ, вул. Васильківська, 33

² ДУ «Інститут харчової біотехнології і геноміки НАН України», Україна, 04123, Київ, вул. Осиповського, 2а

E-mail: natalkozub@gmail.com

Пшенично-житні транслокації з участю плеча 1RS є поширеними інтрогресіями серед комерційних сортів пшениці м'якої: 1BL.1RS від жита Petkus (як у сорту Кавказ) та 1AL.1RS від жита Insave (як у Amigo). Генотипи з рекомбінантним плечем 1RS у складі транслокації можуть нести нові поєднання генів стійкості на хромосомній ділянці, що фланкується локусами *Sec-1* (*Gli-R1*) та *Sec-N*, розміщеному дистально від *Sec-1* на відстані 10–20 сМ. Метою даної роботи було дослідження частоти генотипів з рекомбінантним плечем 1RS у складі пшенично-житних транслокацій у гібридних популяціях пшениці покоління F₅ від схрещення носіїв транслокацій 1BL.1RS і 1AL.1RS. Матеріалом дослідження слугували вибірки зерен F₅ з гібридних популяцій Миронівська 67 (M67) × Колумбія, Колумбія × M67, Б-16 × Смуглянка та Смуглянка × Б-16. Сорт M67 і лінія Б-16 – носії 1BL.1RS як у сорту Кавказ; сорти Смуглянка і Колумбія – носії 1AL.1RS як у сорту Amigo. Для ідентифікації присутності транслокацій з участю 1RS та їх положення (на 1AL чи 1BL) використовували електрофорез спирторозчинних білків зерна та ідентифікацію алелів локусів *Gli-A1/Gli-R1*, *Gli-B1/Gli-R1*. За допомогою SDS-електрофорезу ідентифікували алелі за локусом *Sec-N*. Наявність продуктів рекомбінації між плечами 1RS визначали за зміною хромосомного положення відповідного алеля локусів *Gli-R1* (*Sec-1*) та *Sec-N*. У гібридних популяціях F₅ серед шести теоретично можливих варіантів генотипів з рекомбінантним плечем 1RS за секаліновими локусами виявлено п'ять. Сумарна частота носіїв одночасно двох транслокацій становила від 3,3 до 18,0 %, а сумарна частота генотипів з одним ідентифікованим рекомбінантним плечем 1RS – від 5,7 до 30,5 %. Найбільшу частоту генотипів з рекомбінантним плечем 1RS виявлено в популяції F₅ M67 × Колумбія.

Ключові слова: *Triticum aestivum*, 1BL.1RS, 1AL.1RS, секалін, гліадин, електрофорез білків

Вступ. Центричні пшенично-житні транслокації з участю плеча 1RS: 1BL.1RS (транслокація

короткого плеча хромосоми 1R жита (*Secale cereale* L.) на довге плече хромосоми 1B) та 1AL.1RS (транслокація 1RS на довге плече хромосоми 1A) залишаються широко поширеними інтрогресіями серед комерційних сортів пшениці м'якої (Purnhauser et al, 2011; Zhang et al, 2011; Tabibzadeh et al, 2013; Schlegel, 2016; Graybosch et al, 2019; Kozub et al, 2020). У більшості комерційних сортів із транслокацією 1BL.1RS плече 1RS походить від жита Petkus через лінію Riebesel 47–51 (Rabinovich, 1998). Широковідомими сортами з такою транслокацією є сорти Аврора і Кавказ. У транслокації 1AL.1RS житнє плече походить від аргентинського сорту жита Insave, а першим сортом м'якої пшениці з 1AL.1RS був сорт Amigo (Rabinovich, 1998).

Для рутинної ідентифікації присутності транслокацій 1BL.1RS та 1AL.1RS найпростішим та найбільш інформативним методом є електрофорез спирторозчинних запасних білків зерна (гліадинів пшениці і секалінів жита) у кислому середовищі, що показує присутність характерного блоку омега-секалінів (Sozinov and Popereya, 1977; Sasek and Bartos, 1980; Metakovsky et al, 2018). Цей метод дозволяє одночасно визначити розміщення 1RS у складі транслокації – на довгому плечі хромосоми 1A чи 1B без додаткових аналізів: за відсутністю блоків гліадинів, кодованих *Gli-A1* або *Gli-B1* (Kozub et al, 2018). На 1RS більшість секалінових генів знаходяться у локусі *Sec-1* (*Gli-R1*), розміщеному на відстані 33,6–36,4 сМ від центромери (Lukashewski, 2000; Sharma et al, 2009). Дослідження Rogowsky et al (1991) та Lukaszewski (2000) показали, що локуси *Sec-1* та *Gli-1/Glu-3* є негомеологічними та розміщуються в різних позиціях на відповідних коротких плечах хромосом 1 гомеологічної групи. У наших попередніх дослідженнях було картовано новий секаліновий локус, позначений *Sec-N*,

© Н.О. КОЗУБ, І.О. СОЗІНОВ, Г.Я. БІДНИК,
Н.О. ДЕМ'ЯНОВА, О.І. СОЗІНОВА, А.В. КАРЕЛОВ,
О.І. БОРЗИХ, Я.Б. БЛЮМ, 2022

на відстані 10–23 сМ дистально відносно локусу *Sec-1* (Kozub et al, 2014; 2018). Секвенування плеча 1RS у лінії пшениці м'якої Aikang58 з транслокацією як у сорту Кавказ, здійснене Ru et al (2020) за технологією Illumina HiSeq, показало що кластер гамма-секалінових генів розміщений дистально на відстані майже 9000 т.п.н від кластеру омега-секалінових генів. Відстань біля 12000 т.п.н. також виявлено між кластерами гамма-секалінових та омега-секалінових генів при секвенуванні геному китайського сорту жита Weining, а кластер гамма гліадинів також знаходився дистальніше від омега-гліадинового кластера (Li et al, 2021). Якщо припустити, що відношення фізичної до генетичної відстані менше 1000 т.п.н/сМ, особливо враховуючи наявність ген-багатих ділянок, то генетична відстань між цими кластерами секалінів – не менше 10 сМ. Судячи з відстані між кластерами гамма і омега-секалінів, одержаними Ru et al (2020) та Li et al (2021) при секвенуванні, ці секалінові кластери розміщені в окремих локусах, омега-секаліни – в більш проксимально розміщеному локусі *Sec-1*, гамма-секаліни – в окремому дистальному локусі. Тому локус *Sec-N* (Kozub et al, 2014; 2018) може збігатись, або бути зчепленим з локусом, де знаходиться кластер гамма-гліадинів.

З використанням електрофорезу гліадинів, за присутністю певних блоків гліадинів та секалінів, нами раніше було ідентифіковано рекомбінантні транслокації 1BL.1RS та 1AL.1RS серед популяції рекомбінантно-інбредних ліній (PII) покоління F_6 , причому 1RS у складі різних транслокацій на плечах 1AL і 1BL рекомбінували з частотою від 7 % (за маркером *Sec-1*) до 12 % (за *Sec-N*) (Kozub et al, 2018). Метою даної роботи було дослідження частоти генотипів з рекомбінантним плечем 1RS у складі пшенично-житніх транслокацій у гібридних популяціях пшениці покоління F_5 від схрещення носіїв з транслокаціями 1BL.1RS (типу Кавказ) і 1AL.1RS (типу Amigo).

Матеріали і методи. Матеріалом дослідження слугували гібридні популяції покоління F_5 (зерно F_5 з популяції рослин F_4) від схрещення сортів пшениці м'якої озимої з різними пшенично-житніми транслокаціями – 1AL.1RS типу Amigo та 1BL.1RS типу Кавказ: Миронівська 67 (M67) × Колумбія, Колумбія × M67, Б-16 ×

× Смуглянка та Смуглянка × Б-16. Сорт M67 і лінія Б-16 – носії транслокації 1BL.1RS як у сорту Кавказ; сорти Смуглянка і Колумбія – носії транслокації 1AL.1RS як у сорту Amigo. Популяцію зерен F_2 від таких схрещень було попередньо пересіяно на дослідній ділянці (с. Гатне, Київська обл.) впродовж двох років до отримання рослин F_4 . Проаналізовано 128 зернівок популяції M67 × Колумбія, 213 – Колумбія × M67, 225 – Б-16 × Смуглянка та 185 – Смуглянка × Б-16.

Спирторозчинні білки зерна аналізували електрофорезом у кислому середовищі в 10%-вому поліакриламідному гелі за розробленою нами методикою (Kozub et al, 2009). Електрофорез у присутності додецилсульфату натрію (SDS-електрофорез) загального білку зерна проводили за методикою Laemmli в 10%-вому розділяючому гелі (Laemmli, 1970). На SDS-електрофореграмі відмічали присутність-відсутність компонента під у-субодиницею, кодовою локусом *Glu-D1*: присутність позначали 'а' (як у носіїв транслокації типу Amigo – Смуглянка, Колумбія), відсутність – 'о' (як у Б-16 і M67). Компонент 'а' кодується алелем *a* локусу *Sec-N* (Kozub et al, 2018). Алелі батьківських сортів та ліній за досліджуваними проламіновими локусами наведено в табл. 1. Маркером пшенично-житніх транслокацій є присутність на електрофореграмі спирторозчинних білків зерна секалінових компонентів, кодованих генами локусу *Gli-R1* (*Sec-1*). Електрофореграми гліадинів Б-16 і M67 з транслокацією 1BL.1RS типу Кавказ містять блок секалінів, кодованих алелем, позначеним *Gli-R1^K* (блок Gld 1B3). Сорти Смуглянка і Колумбія з транслокацією 1AL.1RS типу Amigo мають блок секалінів, кодованих алелем, позначеним *Gli-R1w^A* (блок Gld 1A17). Блоки секалінів на електрофореграмах наведено в попередній пуб-

Таблиця 1. Алелі за досліджуваними маркерними локусами батьківських форм для створення гібридних популяцій F_5

Локус	Смуглянка	Колумбія	M67	Б-16
<i>Gli-A1/Gli-R1</i>	w ^A	w ^A	f	x
<i>Gli-B1/Gli-R1</i>	b	b	l ^K	l ^K
<i>Sec-N</i>	a	a	o	o

лікації (Kozub et al, 2018). Решту алелів позначено за Metakovsky et al (2018), Kozub et al (2009).

Положення плеча 1RS — на хромосомі 1A чи 1B, визначали за наявністю продуктів експресії алелів локусу *Gli-A1* чи *Gli-B1*: у гліадиновому спектрі носіїв транслокації 1AL.1RS присутній блок омега-секалінів, відсутні гліадинові компоненти, кодовані алелем локусу *Gli-A1*, та присутні гліадини, кодовані *Gli-B1*; у гліадиновому спектрі носіїв транслокації 1BL.1RS присутній блок омега-секалінів, відсутні гліадинові компоненти, кодовані *Gli-B1*, та присутні гліадини, кодовані *Gli-A1*. Наявність продуктів рекомбінації між плечами 1RS визначали за зміною хромосомного положення відповідного алеля локусів *Gli-R1 (Sec-1)* та *Sec-N*.

Результати і обговорення. Серед зернівок популяцій на основі електрофореграм запасних білків можна ідентифікувати генотипи № 1–16 (табл. 2, 3). Зокрема, виявлено генотипи з рекомбінантним плечем 1RS (генотипи № 1–6, 11, 12, 14–16). Гліадинові електрофореграми різних генотипів за *GliA1/Gli-R1* та *Gli-B1/Gli-R1*, у тому числі і рекомбінантні ва-

ріанти, показано на рис. 1. Серед носіїв одночасно двох транслокацій рекомбінантне плече мають носії двох однакових алелів локусу *Gli-R1 (Sec-1)*. У випадку наявності двох різних алелів на основі лише цього маркера такого висновку зробити не можна. Окремим випадком є генотип № 16 (рис. 1, доріжка 13), з одночасною експресією блоків, кодованих алелями *Gli-B1b*, *Gli-R1w^A* та *Gli-R1^K*. Цей генотип було виявлено лише в популяції М67 × Колумбія. У гліадиновому спектрі цього генотипу відсутні гліадини, кодовані *Gli-A1*, тому можна говорити про наявність транслокації 1AL.1RS. Інший секаліновий алель, можливо, кодується локусом на плечі 1RS, транслокованому на іншу хромосому, відмінну від 1B і 1D, оскільки блоки гліадинів, кодовані *Gli-B1* та *Gli-D1*, присутні на електрофореграмах. Відносно висока частота такого генотипа у популяції зернівок F₅ М67 × Колумбія (7 %) (табл. 3, рис. 2) свідчить про його достатньо високу пристосованість, а, отже і продуктивність. Для вивчення локалізації 1RS такого рекомбінанта треба провести додатковий генетичний аналіз.

Для пошуку рекомбінантів за більш дистально розміщеним локусом *Sec-N* проводи-

Таблиця 2. Кількості зерен F₅ з різними генотипами за трьома проламіновими локусами в досліджуваних популяціях

№ генотипа	<i>GliA1/Gli-R1</i>	<i>Gli-B1/Gli-R1</i>	<i>Sec-N/-</i>	Колумбія × × М67	М67 × × Колумбія	Смуглянка × × Б-16	Б-16 × × Смуглянка
1*	<i>l^K</i>	<i>b</i>	<i>o</i>	13	7	17	0
2*	<i>l^K</i>	<i>b</i>	<i>a</i>	0	0	0	0
3*	<i>x</i>	<i>w^A</i>	<i>a</i>	4	18	8	5
4*	<i>x</i>	<i>w^A</i>	<i>o</i>	1	0	6	1
5*	<i>x</i>	<i>l^K</i>	<i>a</i>	4	4	3	1
6*	<i>w^A</i>	<i>b</i>	<i>o</i>	9	10	5	6
7	<i>w^A</i>	<i>b</i>	<i>a</i>	25	31	54	101
8	<i>x</i>	<i>l^K</i>	<i>o</i>	76	21	34	11
9	<i>x</i>	<i>b</i>	—	49	14	52	71
11*	<i>l^K</i>	<i>l^K</i>	<i>a</i>	2	0	0	0
12*	<i>l^K</i>	<i>l^K</i>	<i>o</i>	4	1	0	1
13	<i>w^A</i>	<i>l^K</i>	<i>a</i>	20	11	6	17
14*	<i>w^A</i>	<i>l^K</i>	<i>o</i>	1	2	0	0
15*	<i>w^A</i>	<i>w^A</i>	<i>a</i>	5	0	0	11
16*	<i>w^A ?+l^K</i>	<i>b</i>	<i>o</i>	0	9	0	0

Примітки. * — з рекомбінантним плечем 1RS.

ли SDS-електрофорез загального білку цих же зернівок та відмічали рекомбінантні генотипи з поєднаннями *Gli-R1^KSec-Na* (експресія секаліна 'a') та *Gli-R1^wSec-No* (відсутність експресії секаліна 'a') у положеннях 1A або 1B. Приклад SDS-електрофореграми показано на рис. 3.

Частоти генотипів за проламіновими локусами *Gli-A1/Gli-R1*, *Gli-B1/Gli-R1*, *Sec-N* у вибірках зернівок популяцій F₅ від досліджених схрещень наведено в табл. 3. При проаналізованому розмірі вибірок (до 225 зерен) у жодній популяції не виявлено рекомбінантного генотипа № 2, що має транслокацію 1AL.1RS з секаліновими алелями *Gli-R1^KSec-Na*. Однак, такий генотип було виявлено в попередніх дослідженнях при аналізі популяції РІЛ пшениці м'якої озимої покоління F₆, створеної від реципрокного схрещення ліній з пшенично-житніми транслокаціями 1BL.1RS (типу Кавказ) і 1AL.1RS (типу Amigo) Б-16 × 7086 AR, де 7086 AR – носій 1AL.1RS транслокації типу Amigo (Kozub et al, 2018). Серед 391 гомозиготної за маркерними локусами РІЛ було три лінії з таким генотипом, тобто частота такого генотипу становила 0,77 %. Не виключено, що такий генотип можна знайти і в гібридних популяці-

ях F₅ при збільшенні досліджуваної вибірки до 450–500 особин.

Решта рекомбінантних генотипів зустрічались у більшості досліджених популяцій F₅. Найменшу сумарну частоту генотипів з одним рекомбінантним плечем 1RS (5,8 %) було виявлено у популяції Б-16 × Смуглянка. У зворотній популяції було 21,2 % таких генотипів. У комбінації Колумбія × М67 сумарна частка генотипів з одним рекомбінантним плечем 1RS – 14,6 %. Найбільше таких рекомбінантів було в популяції М67 × Колумбія – 30,5 %. Ця комбінація видається найбільш перспективною з точки пошуку генотипів з рекомбінантним плечем 1RS в популяціях, створених пересівом сумарної вибірки зерен F₂.

Однією з причин поширеності сортів з транслокацією 1BL.1RS, вочевидь, є наявність на плечі 1RS генів стійкості до збудників хвороб пшениці. Плече 1RS від жита Petkus у складі 1BL.1RS несе ген стійкості до борошнистої роси *Pm8* та гени стійкості до збудників іржастих хвороб *Sr31*, *Lr26* та *Yr9* (McIntosh, 2013) Плече 1RS у складі транслокації 1AL.1RS від жита Insave як у сорту Amigo містить ген стійкості до біотипів попелиці *Schizaphis graminum*

Таблиця 3. Частоти різних генотипів за трьома проламіновими локусами в досліджуваних популяціях F₅ та в популяції РІЛ F₆ (Kozub et al, 2018)

№ генотипа	<i>GliA1/Gli-R1</i>	<i>Gli-B1/Gli-R1</i>	<i>Sec-N/-</i>	Колумбія × М67	М67 × Колумбія	Смуглянка × Б-16	Б-16 × Смуглянка	РІЛ
1*	<i>l^K</i>	<i>b</i>	<i>o</i>	6,10	5,47	9,24	0,00	6,89
2*	<i>l^K</i>	<i>b</i>	<i>a</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,77
3*	<i>x</i>	<i>w^A</i>	<i>a</i>	1,88	14,06	4,35	2,22	3,83
4*	<i>x</i>	<i>w^A</i>	<i>o</i>	0,47	0,00	3,26	0,44	0,26
5*	<i>x</i>	<i>l^K</i>	<i>a</i>	1,88	3,13	1,63	0,44	3,57
6*	<i>w^A</i>	<i>b</i>	<i>o</i>	4,23	7,81	2,72	2,67	3,32
7	<i>w^A</i>	<i>b</i>	<i>a</i>	11,74	24,22	29,35	44,89	27,55
8	<i>x</i>	<i>l^K</i>	<i>o</i>	35,68	16,41	18,48	4,89	20,92
9	<i>x</i>	<i>b</i>	—	23,00	10,94	28,26	31,56	27,81
11*	<i>l^K</i>	<i>l^K</i>	<i>a</i>	0,94	0,00	0,00	0,00	Н1
12*	<i>l^K</i>	<i>l^K</i>	<i>o</i>	1,88	0,78	0,00	0,44	Н
13	<i>w^A</i>	<i>l^K</i>	<i>a</i>	9,39	8,59	3,26	7,56	Н
14*	<i>w^A</i>	<i>l^K</i>	<i>o</i>	0,47	1,56	0,00	0,00	Н
15*	<i>w^A</i>	<i>w^A</i>	<i>a</i>	2,35	0,00	0,00	4,89	Н
16*	<i>w^A ?+l^K</i>	<i>b</i>	<i>o</i>	0,00	7,03	0,00	0,00	Н

Примітка. * – з рекомбінантним плечем 1RS; Н – дані не наведено.

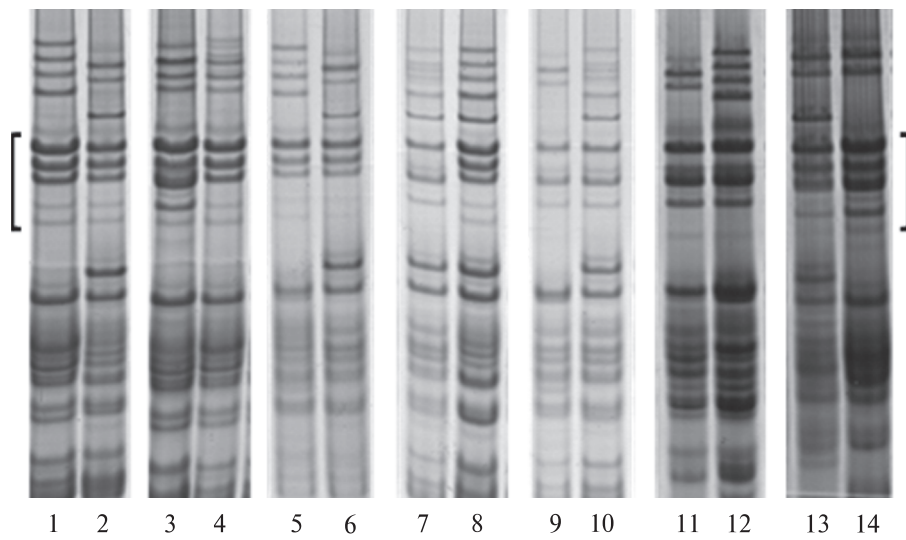


Рис. 1. Електрофореграма спирторозчинних білків окремих зернівок F_5 досліджуваних популяцій: 1, 4 – генотип з двома транслокаціями з алелем *Gli-R1w^A*; 2, 6, 8 – з транслокацією 1AL.1RS з алелем *Gli-R1w^A*; 3, 14 – з двома транслокаціями з алелем *Gli-R1w^A* та *Gli-R1l^K*; 5 – з транслокацією 1BL.1RS з алелем *Gli-R1w^A*; 7, 10 – з транслокацією 1AL.1RS з алелем *Gli-R1l^K*; 9, 12 – з транслокацією 1BL.1RS з алелем *Gli-R1l^K*; 11 – з двома транслокаціями з алелем *Gli-R1l^K*; 13 – з одночасною експресією блоків, кодovаних алелями *Gli-B1b*, *Gli-R1w^A* та *Gli-R1l^K*. Генотипи з рекомбінантними 1RS, ідентифікованими на основі електрофорузу в кислому середовищі: доріжки 1, 4, 5, 7, 10, 11, 13, 14. Дужками показано зону з омега-секалінами, кодovаними *Gli-R1*

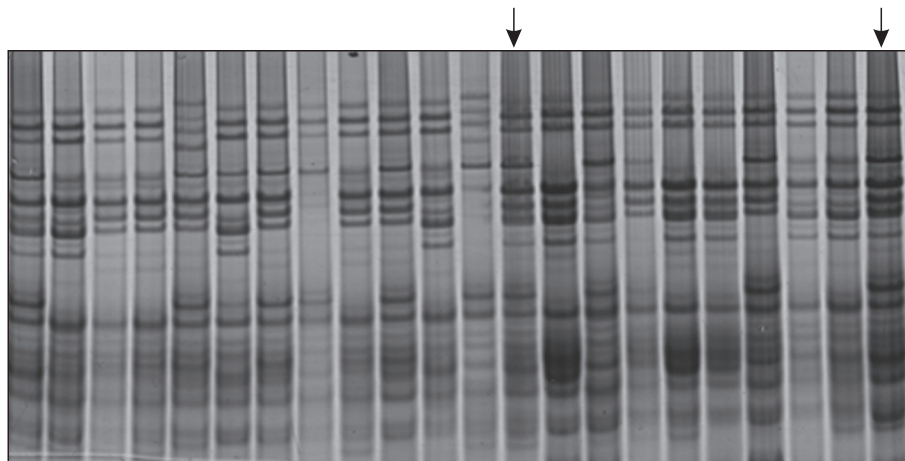


Рис. 2. Електрофореграма спирторозчинних білків окремих зернівок F_5 популяції М67 × Колумбія. Стрілкою відмічено рекомбінантні генотипи № 16

(Rondani) В та С *Gb2*, ген стійкості до кліща *Aceria tosicheilla* (Keifer) *Cm3*, та гени *Pm17* і *Sr1RS^{Amigo}* (McIntosh, 2013). Не дивлячись на появу рас стеблової іржі, що долають ген стійкості *Sr31* (Pretorius, 2000; Singh et al, 2015; Olivera et al, 2022), він залишається важливим, оскільки

є ефективним проти нових високопатогенних рас, таких як раса ТТРТФ (Olivera et al, 2019) та раси, виявлені в останні роки в Німеччині (Olivera Firpo et al, 2017). ТТРТФ – раса стеблової іржі, вперше виявлена в 2014 р у Грузії, яка має широкий спектр вірулентності, у тому числі

і до таких важливих генів стійкості до Ug99, як *Sr13b*, *Sr35* та *Sr37*, та помірну вірулентність навіть до *Sr50* (Olivera et al, 2019). Ця раса (тоді її називали ТТТТФ) викликала епіфітотію стеблової іржі в Сицилії в 2016 р. (Bhattacharya, 2017); ТТРТФ також було виявлено в Еритреї в 2016 р., в Ефіопії в 2017 р. та на півдні Ірану в 2019 р. (Patroug et al, 2020). Ген *Sr1RS^{Amigo}* є також важливим, оскільки він є ефективним проти всіх відомих біотипів раси стеблової іржі Ug99 (Singh et al, 2015), хоча і долається деякими іншими расами (Mago et al, 2015). Ген *Pm8* було прокартовано дистально від *Sec-1* на відстані 13,2 сМ, а гени *Sr31*, *Lr26* та *Yr9* – також дистально на відстані 6,6 сМ від *Sec-1* (Sharma et al, 2009). Згідно з картою, наведеною в статті Liu et al (2014), ген *Cmc3* знаходиться на відстані 7 сМ дистально від *Sec-1*, а ген *Gb2* – на відстані 4 сМ проксимально від *Sec-1*. Отримання генотипів з рекомбінантним плечем 1RS може дати нові поєднання генів стійкості, зокрема поєднання генів *Sr31* та *Sr1RS^{Amigo}* у випадку їх неалельності. Розміщення генів стійкості проти збудників хвороб і шкідників відносно секалінових локусів на 1RS на основі даних Singh et al (1990; 2018), Hsam et al (2000), Mago et al (2002; 2005), Mater et al (2004), Sharma et al. (2009), а також локусів *Sec-1* та *Sec-N* (Kozub et al, 2014; 2018), схематично показано на рис. 4. Аналіз цього розміщення вказує на те, що нові комбінації генів стійкості проти хвороб і шкідників можна, в першу чергу, очікувати у генотипів, які мають рекомбінантні генотипи за локусами *Gli-R1* і *Sec-N*: *Gli-R1^K Sec-Na* та *Gli-R1^{w^A} Sec-*

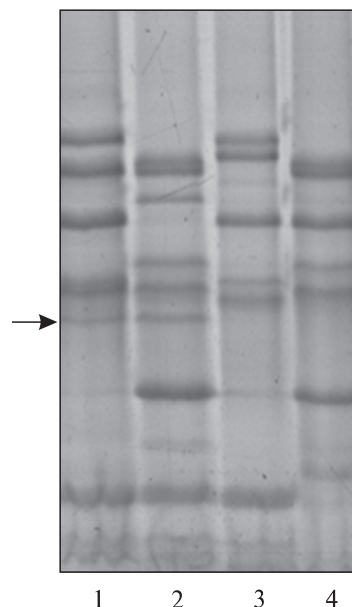


Рис. 3. SDS-електрофореграма відновлених білків окремих зернівок F₅ досліджуваних популяцій: 1, 2 – генотипи з алелем *Sec-Na*; 3, 4 – генотипи з алелем *Sec-No*. Стрілкою відмічено секалін, кодований *Sec-Na*

No. Тому з точки зору пошуку нових комбінацій генів стійкості проти збудників хвороб і шкідників на 1RS найбільш перспективними є генотипи № 2, 4, 5, 6 (табл. 3).

Порівняння частот зустрічання генотипів з рекомбінантним плечем 1RS у досліджених популяціях F₅ та серед популяції ПІЛ F₆ (Kozub et al, 2018) показує близькі частоти різних генотипів з рекомбінантним плечем 1RS (табл. 3). Од-

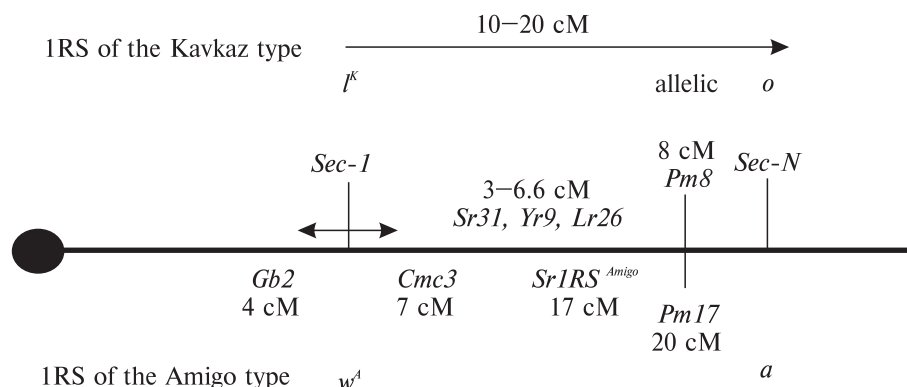


Рис. 4. Схема розміщення секалінових локусів і генів стійкості проти хвороб і шкідників на плечі 1RS. Показано відстані від локусу *Sec-1*. Чорним овалом позначено центромеру; *l^K* та *w^A* – алелі *Sec-1*; *a* та *o* – алелі *Sec-N*

нак, треба враховувати, що при створенні РІЛ значною мірою виключається такий фактор як природній добір у його класичному визначенні, позаяк для пересіву береться зерно з кожної рослини, незалежно від рівня продуктивності (кількості нащадків). При пересіві сумарної вибірки гібридних зерен фактор природнього добору має істотний вплив на генетичну структуру популяції, оскільки генотипи з більшою продуктивністю роблять більший внесок в наступне покоління і, відповідно, частка таких генотипів збільшується. Крім того, виходячи з логіки створення РІЛ, різноманітність носіїв певного поєднання маркерів визначається кількістю відібраних ліній. Водночас, серед популяцій, що пересіваються суцільною вибіркою, різноманітність всередині таких генотипів за маркерними локусами може бути обмеженою, і частота зустрічання такого генотипа може визначатись пристосованістю окремих (поодиноких) ліній. Водночас, суцільний пересів за умов високої конкуренції рослин може дати можливість виділити найбільш адаптовані (продуктивні) варіанти генотипів з рекомбінантними 1RS.

Висновки. За допомогою ідентифікації алелів локусів *Gli-A1/Gli-R1*, *Gli-B1/Gli-R1*, *Sec-N* у вибірках зернівок F_5 популяцій від схрещення генотипів з двома різними пшенично-житніми транслокаціями виявлено генотипи з рекомбінантним плечем 1RS. Серед шести теоретично можливих варіантів рекомбінантних генотипів за цими локусами виявлено п'ять. Частота генотипів з одним ідентифікованим рекомбінантним плечем 1RS в популяціях F_5 складала від 5,7 до 30,5 %. Найбільшу частоту генотипів з рекомбінантними 1RS виявлено в популяції М67 × Колумбія. Частота рекомбінантних генотипів у гібридних популяціях F_5 є близькою до частоти у раніше дослідженій популяції РІЛ F_6 .

Дотримання етичних стандартів. Ця стаття не містить будь-яких досліджень за участю людей і тварин в якості об'єктів дослідження.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Фінансування. Дослідження проводились за рахунок коштів наукового проекту НААН «Маркерний відбір носіїв рекомбінантного плеча

1RS з генами стійкості до хвороб і шкідників пшениці м'якої» (0120U000127).

IDENTIFICATION OF GENOTYPES WITH RECOMBINANT ARM 1RS IN BREAD WHEAT SEGREGATING F_5 POPULATIONS FROM CROSSES BETWEEN CARRIERS OF 1BL.1RS AND 1AL.1RS

N.O. Kozub ^{1,2}, I.O. Sozinov ¹, H.Ya. Bidnyk ^{1,2}, N.O. Demianova ^{1,2}, O.I. Sozinova ^{1,2}, A.V. Karelov ^{1,2}, O.I. Borzykh ¹, Ya. Blume ²

¹ Institute of Plant Protection of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, 03022, 33, Vasylykivska St., Kyiv

² Institute of Food Biotechnology and Genomics of the National Academy of Sciences of Ukraine, 04123, 2 a, Osypovskogo St., Kyiv

E-mail: natalkozub@gmail.com

Wheat-rye translocations involving arm 1RS are widespread introgressions among commercial bread wheat cultivars: 1BL.1RS from the rye Petkus (as in the cultivar Kavkaz) and 1AL.1RS from the rye Insave (as in Amigo). Genotypes with recombinant arm 1RS involved in the translocation can carry new combinations of resistance genes in the chromosome region flanked by the loci *Sec-1* (*Gli-R1*) and *Sec-N*, which is located distal to *Sec-1* at a distance of 10–20 cM. The aim of this investigation was to study the frequency of genotypes with recombinant 1RS arms involved in wheat-rye translocations in segregating F_5 populations from crossing bread wheat carriers of translocations 1BL.1RS and 1AL.1RS. Samples of F_5 seeds from the crosses Myronivska 67 (M67) × Kolumbiia, Kolumbiia × M67, B-16 × Smuhlianka, and Smuhlyanka × B-16 served as the material for the investigation. The cultivar M67 and the line B-16 carry 1BL.1RS as in the cultivar Kavkaz; Smuhlianka and Kolumbiia carry 1AL.1RS as in the cultivar Amigo. Electrophoresis of alcohol-soluble grain proteins and identification of alleles at the *Gli-A1/Gli-R1*, *Gli-B1/Gli-R1* loci were used to identify translocations involving 1RS and their position (on 1AL or 1BL). *Sec-N* alleles were identified by SDS electrophoresis. The presence of recombination products between the 1RS arms was determined based on the change of the chromosomal position of the respective allele at *Gli-R1* (*Sec-1*) and *Sec-N*. In the segregating populations, there were five of six theoretically possible variants of genotypes with recombinant arm 1RS with respect to the secalin loci. The total frequency of genotypes with the simultaneous presence of two translocations ranged from 3.3 to 18.0 %, and the total frequency of genotypes with one identified recombinant arm 1RS was 5.7–30.5 %. The highest frequency of

genotypes with recombinant arm IRS was found in the population M67 × Kolumbia.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Bhattacharya S. (2017) Deadly new wheat disease threatens Europe's crops. *Nature* 542:145–146. doi: 10.1038/nature.2017.21424
- Graybosch R, Bai G, Amand PS et al. (2019) Persistence of rye (*Secale cereale* L.) chromosome arm IRS in wheat (*Triticum aestivum* L.) breeding programs of the Great Plains of North America. *Genet Resour Crop Evol* 66:941–950. doi: 10.1007/s10722-019-00742-4
- Hsam SLK, Mohler V, Hartl L, et al. (2000) Mapping of powdery mildew and leaf rust resistance genes on the wheat-rye translocated chromosome T1BL1RS using molecular and biochemical markers. *Plant Breed* 119(1):87–89. doi: 10.1046/j.1439-0523.2000.00444.x
- Kozub NA, Sozinov IA, Sobko TA et al. (2009) Variation at storage protein loci in winter common wheat cultivars of the Central Forest-Steppe of Ukraine. *Cytol Genet*. 43(1):55–62. doi: 10.3103/S0095452717020050.
- Kozub NA, Motsnyi II, Sozinov IA, et al. (2014) Mapping a new scalin locus on the rye IRS arm. *Cytol Genet*. 48(4):203–207.
- Kozub N, Sozinov I, Karelov A, et al. (2018) Studying recombination between the IRS arms from the rye Petkus and Insave involved in the 1BL1RS and 1AL1RS translocations using storage protein loci as genetic markers. *Cytol Genet* 52(6):440–447. doi: 10.3103/S0095452718060063
- Kozub NO, Sozinov IO, Chaika VM, et al. (2020) Changes in allele frequencies at storage proteins of winter common wheat under climate change. *Cytol Genet* 54:305–317. doi: 10.3103/S0095452720040076
- Laemmli UK. (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227(5259):680–685. doi:10.1038/227680a0
- Li G, Wang L, Yang J, et al. (2021) A high-quality genome assembly highlights rye genomic characteristics and agronomically important genes. *Nat Genet* 53(4):574–584. doi: 10.1038/s41588-021-00808-z
- Liu S, Rudd JC, Bai G, et al. (2014) Molecular markers linked to important genes in hard winter wheat. *Crop Sci* 54:1304–1321. doi: 10.2135/cropsci2013.08.0564
- Lukashewski AJ. (2000) Manipulation of the IRS.1BL translocation in wheat by induced homoeologous recombination. *Crop Sci* 40:216–225. doi: 10.2135/cropsci2000.401216x
- Mago R, Spielmeyer W, Lawrence J et al. (2002) Identification and mapping of molecular markers linked to rust resistance genes located on chromosome IRS of rye using wheat-rye translocation lines. *Theor Appl Genet* 104(17):1317–24. doi: 10.1007/s00122-002-0879-3
- Mago R, Miah H, Lawrence GJ et al. (2005) High-resolution mapping and mutation analysis separate the rust resistance genes *Sr31*, *Lr26* and *Yr9* on the short arm of rye chromosome 1 *Theor Appl Genet* 112(1):41–50. doi: 10.1007/s00122-005-0098-9
- Mago R, Zhang P, Vautrin S, et al. (2015) The wheat *Sr50* gene reveals rich diversity at a cereal disease resistance locus. *Nature Plants* 1:15186. doi: 10.1038/nplants.2015.186
- Mater Y, Baenziger S, Gill K et al. (2004) Linkage mapping of powdery mildew and greenbug resistance genes on recombinant IRS from Amigo and Kavkaz wheat-rye translocations on chromosome IRS.1AL. *Genome* 47(2):292–8. doi: 10.1139/g03-101
- McIntosh RA. (2013) Catalogue of Gene Symbols. Gene Catalogue. URL: <http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/download.jspMacGene>
- Metakovsky E, Melnik V, Rodriguez-Quijano M, et al. (2018) A catalog of gliadin alleles: Polymorphism of 20th-century common wheat germplasm. *The Crop J* 6(6):628–641. doi: 10.1016/j.cj.2018.02.003
- Olivera PD, Sikharulidze Z, Dumbadze R, et al. (2019) Presence of a sexual population of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* in Georgia provides a hotspot for genotypic and phenotypic diversity. *Phytopathology* 109(12):2152–2160. doi: 10.1094/PHYTO-06-19-0186-R
- Olivera PD, Villegas D, Cantero-Martínez C et al. (2022) A unique race of the wheat stem rust pathogen with virulence on *Sr31* identified in Spain and reaction of wheat and durum cultivars to this race. *Plant Pathol*. doi: 10.1111/PPA.13530
- Olivera Firpo PD, Newcomb M, Flath K, et al. (2017) Characterization of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* isolates derived from an unusual wheat stem rust outbreak in Germany in 2013. *Plant Pathol* 66:1258–1266.
- Patpour M, Justesen AF, Tecele AW, et al. (2020) First report of race TTRTF of wheat stem rust (*Puccinia graminis* f. sp. *tritici*) in Eritrea. *Plant Dis* 104(3):973. doi: 10.1094/PDIS-10-19-2133-PDN
- Pretorius ZA. (2000) Detection of virulence to wheat stem rust resistance gene *Sr31* in *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* *Plant Dis* 84(2):203. doi: 10.1094/PDIS.2000.84.2.203B.
- Purnhauser L, Bona L, Lang L. (2011) Occurrence of 1BL1RS wheat-rye chromosome translocation and of *Sr36/Pm6* resistance gene cluster in wheat cultivars registered in Hungary. *Euphytica* 179:287–295. doi: 10.1007/s10681-010-0312-y

- Rabinovich SV. (1998) Importance of wheat-rye translocations for breeding modern cultivars of *Triticum aestivum* L. *Euphytica* 100(1–3):323–340. doi: 10.1023/A:1018361819215
- Rogowsky PM, Guidet FL, Langridge P, et al. (1991) Isolation and characterization of wheat-rye recombinants involving chromosome arm 1DS of wheat *Theor Appl Genet* 82(5):537–544. doi: 10.1007/BF00226788.
- Ru Z, Juhasz A, Li D, et al. (2020) 1RS.1BL molecular resolution provides novel contributions to wheat improvement. *bioRxiv* 2020.09.14. 295733. doi: 10.1101/2020.09.14.295733
- Sasek A, Bartos P. (1980) Gliadinova spectra odrud pšenice s 1B/1R translokaci nebo sustitui: Sbor UVITZ *Genet a Slecht* 16(4):243–251.
- Schlegel R. (2016) Current list of wheats with rye and alien introgression. 05–16:1–18. URL: <http://www.rye-gene-map.de/rye-introgression>
- Sharma S, Bhat PR, Ehdaie B et al. (2009) Integrated genetic map and genetic analysis of a region associated with root traits on the short arm of rye chromosome 1 in bread wheat. *Theor Appl Genet* 119(5):783–793. doi: 10.1007/s00122-009-1088-0
- Singh NK, Shepherd KW, McIntosh RA. (1990) Linkage mapping of genes for resistance to leaf, stem and stripe rusts and ω -secalins on the short arm of rye chromosome 1R *Theor Appl Genet* 80(5):609–16. doi: 10.1007/BF00224219
- Singh RP, Hodson DP, Jin Y, et al. (2015) Emergence and spread of new races of wheat stem rust fungus: continued threat to food security and prospects of genetic control *Phytopathology* 105(7):872–84. doi: 10.1094/PHYTO-01-15-0030-FI
- Singh SP, Hurni S, Ruinelli M et al. (2018) Evolutionary divergence of the rye *Pm17* and *Pm8* resistance genes reveals ancient diversity. *Plant Mol Biol* 98:249–260. doi: 10.1007/s11103-018-0780-3
- Sozinov AA, Poperelya FA. (1977) Gliadin electrophoresis as a method of wheat identification of wheats in which chromosome 1B is completely or partially replaced by rye chromosome 1R. *Dokl VASKhNIL* 2:2–4
- Tabibzadeh N, Karimzadeh G, Naghavi MR. (2013) Distribution of 1AL.1RS and 1BL.1RS wheat-rye translocations in Iranian wheat, using PCR based markers and SDS-PAGE *Cereal Res Commun* 41:458–467. doi: 1556/CRC.2013.0023
- Tesfaye T, Chala A, Shikur E et al. (2020). First report of TTRTF race of wheat stem rust, *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*, in Ethiopia *Plant Dis* 104:293–293. doi: 10.1094/PDIS-07-19-1390-PDN
- Zhang L, Liu D, Guo X et al. (2011) Investigation of genetic diversity and population structure of common wheat cultivars in northern China using DArT markers *BMC Genet* 12:42. doi: 10.1186/1471-2156-12-42

Надійшла в редакцію 16.02.22
Після доопрацювання 17.05.22
Прийнята до друку 18.09.22