

УДК 575.2+575.222.73

DOI: 10.18523/2617-4529.2019.2.3-12

Антонюк М. З., Єфіменко Т. С., Наваліхіна А. Г.

ХРОМОСОМОСПЕЦИФІЧНИЙ МІКРОСАТЕЛІТНИЙ АНАЛІЗ ІНТРОГРЕСИВНИХ ЛІНІЙ ПШЕНИЦІ М'ЯКОЇ, СТІЙКИХ ДО БОРОШНИСТОЇ РОСИ

Скриновано інтрогресивні лінії пшениці, стійкі до борошністої роси, за мікросателітними (SSR) локусами з відомою хромосомною локалізацією на семи хромосомах субгеному D пшениці м'якої. Порівняльний мікросателітний аналіз спектрів ампліконів сорту Аврора, геномно-заміщених амфідиплоїдів Аврозис, Авродес, Авролата та інтрогресивних ліній показав відсутність геномної специфічності для більшості з використаних локусів. Усі вивчені інтрогресивні лінії стосовно реципієнтного генотипу Аврора характеризуються алейним поліморфізмом за різною кількістю мікросателітних локусів, локалізованих у всіх семи хромосомах субгеному D. Поліморфізм включає нові компоненти у спектрах ампліфікації, які відрізняються від компонентів спектрів як Аврори, так і геномно-заміщених амфідиплоїдів. За результатами аналізу зроблено припущення щодо можливого зв'язку генів стійкості з хромосомами гомеологічних груп 3 та 6 у лінії – похідних Авродесу, 1, 2, 3, 6 – похідних Авролати та групи 2 у похідних Аврозису.

Ключові слова: пшениця м'яка, інтрогресивні лінії, види егілопсів, борошніста роса, мікросателітний аналіз.

Найбільш раціональним, природо- та енергозберігальним механізмом захисту рослин, що культивуються, від шкідливого впливу захворювань є надання їм генетичної стійкості до збудників захворювань [1]. На жаль, через процес коєволюції збудника та хазяйського рослинного виду генетична стійкість рослин швидко долається за умов їхнього вирощування як монокультури, а саме так вирощуються сорти пшениці м'якої [2]. Борошніста роса є одним із найбільш шкодочинних захворювань пшениці при її культивуванні в країнах з помірним кліматом [3]. Захворювання викликається облігатним паразитним грибом *Blumeria graminis* (DC) E.O. Speer f. sp. *tritici* Em. Marchal (*Bgt*) [1]. На сьогодні у пшениці м'якій та її родичів локалізовано принаймні 80 генів (алелів), які забезпечують стійкість рослин пшениці до спор збудника [4], більшість з яких є генами вертикальної стійкості *R*, що мають спеціальну

назву *Pm*. Найбільш швидко, через коєволюцію геномів збудника та хазяїна, долається система захисту, що забезпечується саме генами вертикальної стійкості [3,5]. Оскільки перелік генів стійкості до борошністої роси, які є власне пшеничними генами, суттєво обмежений [4], в останні 40 років триває перманентний процес передачі до її геному чужинних генів стійкості від дикорослих родичів за допомогою методів геномної та хромосомної інженерії (огляди [6–8]).

У нашому дослідженні були задіяні інтрогресивні лінії – похідні геномно-заміщених амфідиплоїдів Авродесу, Аврозису та Авролати, стійкі до борошністої роси. Геном згаданих амфідиплоїдів складається з тетраплоїдного компонента AABB пшениці м'якої сорту Аврора та геномів диплоїдних видів егілопсів S (*Aegilops speltoides*), S^{sh} (*Ae. sharonensis*) та U (*Ae. umbellulata*), відповідно. Кожен із видів уже відомий як джерело

генів стійкості *Pm* до борошнистої роси пшениці [6]. Сорт Аврора в польових умовах вражається борошнистою росою на рівні 3–4 балів. Досліджувані інтрогресивні лінії було створено шляхом статевої гібридизації сорту пшениці м'якої Аврора з геномно-заміщеними амфідиплоїдами з наступним 1–3-кратним беккросуванням їхніх гібридів із пшеницею м'якою (Авурою) та самозапиленнями створених ліній. У результаті отримали лінії з різними чужинними включеннями за обсягом хроматину та його гомеологічної належності [9]. Було зроблено припущення, що стійкість досліджуваних ліній до цього захворювання забезпечується чужинними генами стійкості, які увійшли до складу геномів інтрогресивних ліній під час їхнього створення, і постало питання про хромосомну локалізацію генів стійкості в різних інтрогресивних лініях. У статті наведено результати скринування інтрогресивних ліній пшениці, стійких до борошнистої роси, за мікросателітними (SSR) локусами з відомою хромосомною локалізацією на семи хромосомах хромосом субгеному D пшениці м'якої.

Матеріали та методи

Рослинний матеріал, використаний у дослідженні: сорт пшениці м'якої Аврора; геномно-заміщені амфідиплоїди Аврозис (AABBS^{shSh}), Авролата (AABBUU), Авродес (AABBDD); три інтрогресивні лінії – похідні Аврозису; 13 інтрогресивних ліній – похідних Авролати; 24 інтрогресивні лінії – похідні Авродесу. Обрані лінії були стійкими на рівні 7–9 балів за шкалою РЕВ [10] та були вивчені раніше щодо наявності та гомологічної специфічності чужинних включень [9].

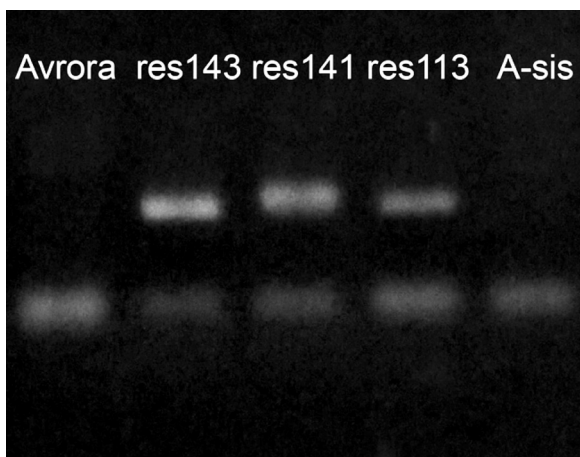


Рис. 1. Електрофоретичні спектри ліній – похідних Аврозису за локусом *Xcfd161* (2DL): Авгога – сорт пшениці м'якої Аврора; A-sis – амфідиплоїд Аврозис; res – номери ліній

ДНК виділяли за модифікованим ЦТАБ-методом із листків. ПЛР проводили з ПЛР ДНК ліній із праймерами до 44 мікросателітних локусів (SSRs), локалізованих на різних хромосомах субгеному D [11–13]. Електрофорез продуктів ампліфікації проводили у 6 % ПААГ у денатуруючому середовищі (6М сечовини). Результат візуалізували за допомогою нітрату срібла.

У ПЛР-суміш (у розрахунку на 30 мкл) для кожного зразка вносили 6,96 мкл бідистильованої води, 3 мкл 10x буфера для Taq-полімерази, 1,8 мкл MgCl₂ (25 мМ), 3 мкл суміші дезокси-нуклеотидтрифосфатів (по 2 мМ кожного в 5 мкл та 230 мкл бідистильованої води), по 6 мкл кожного праймера, 0,24 мкл Taq-полімерази (SibEnzyme, 5000 у/мл) та 3 мкл зразка ДНК (50 нг/мкл). Умови проведення реакції ампліфікації відповідно до рекомендацій розробників праймерів.

Результати та обговорення

Більшість із залучених до дослідження мікросателітних локусів виявили гомеологічну специфічність, а не геномну, задекларовану у статтях оригінаторів. З ними були отримані продукти ампліфікації для амфідиплоїдів, які не мають D геному. Частина праймерів давала продукт ампліфікації з ДНК амфідиплоїда, який не відрізняється від Аврори (рис. 1, 4, 8). Можливо, ампліфікуються ДНК-последовності хромосом субгеномів А та В. Деякі праймери давали продукт ампліфікації з ДНК амфідиплоїда, який відрізнявся від такого (таких), властивого ДНК Аврори (рис. 2, 3, 5). Можна думати, що ампліфікується ДНК чужинного геному. І третій, теоретично очікуваний варіант спектра – відсутність компонентів у ньому, коли ампліфікується ДНК амфідиплоїда (рис. 6, 7).

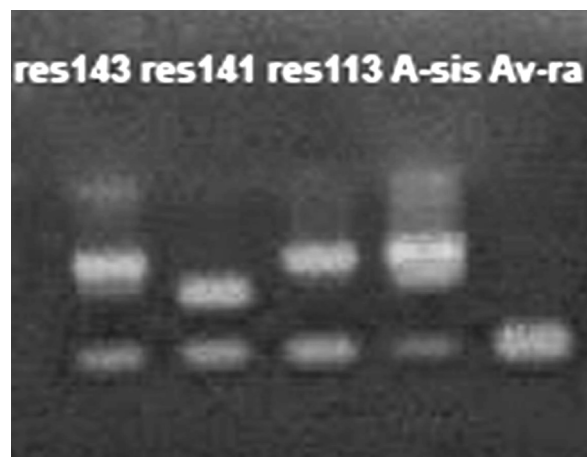


Рис. 2. Електрофоретичні спектри ліній – похідних Аврозису за локусом *Xgwm33* (1DS): Ав-га – сорт пшениці м'якої Аврора; A-sis – амфідиплоїд Аврозис; res – номери ліній

Серед усіх досліджуваних мікросателітних локусів сім виявили свою специфічність до D геному і не показали продукту із ДНК жодного амфідиплоїда. Це локуси: *Xcfd56-2DS*, *Xcfd64-3D*, *Xgwm190-5DS*, *Xcfd8-5DL*, *Xcfd60-6DL*, *Xbarc111-7DL*, *Xbarc53-7DL*. До локусів, які були виявлені у всіх амфідиплоїдів, належать усі досліджувані локуси 1-ї хромосоми

(*Xgwm33*, *Xcfd92*, *Xgwm106*), 3 локуси на 2D хромосомі (*Xcfd43*, *Xcfd17*, *Xcfd161*), по одному локусу на 4-й, 5-й та 7-й хромосомах (*Xcfd84-4DL*, *Xwmc434-5DL*, *Xgwm44-7DS*).

Результати скринування стійких ліній показали, що жодна з них за набором мікросателітних локусів не відповідає ані Аврорі, ані відповідному амфідиплоїду. Це свідчить на користь

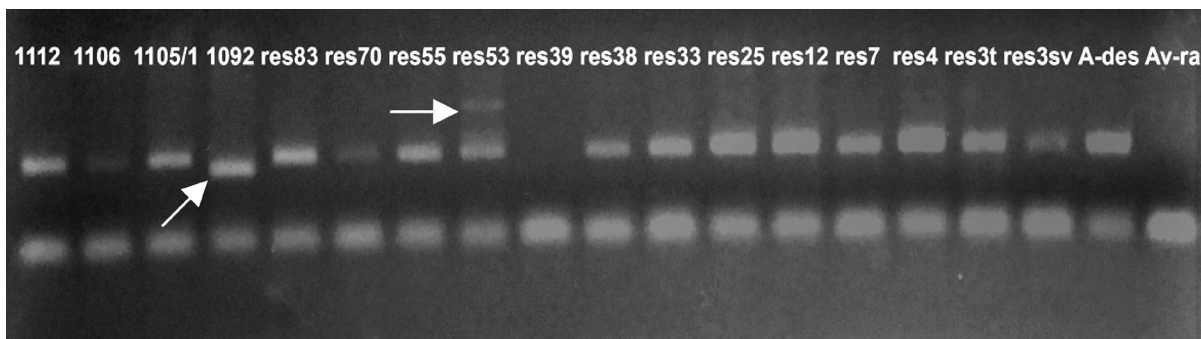


Рис. 3. Електрофоретичні спектри ліній – похідних Авродесу за мікросателітним локусом *Xcfd43* (2DS): Av-ra – сорт пшениці м'якої Аврора; A-des – амфідиплоїд Авродес; res – номери ліній

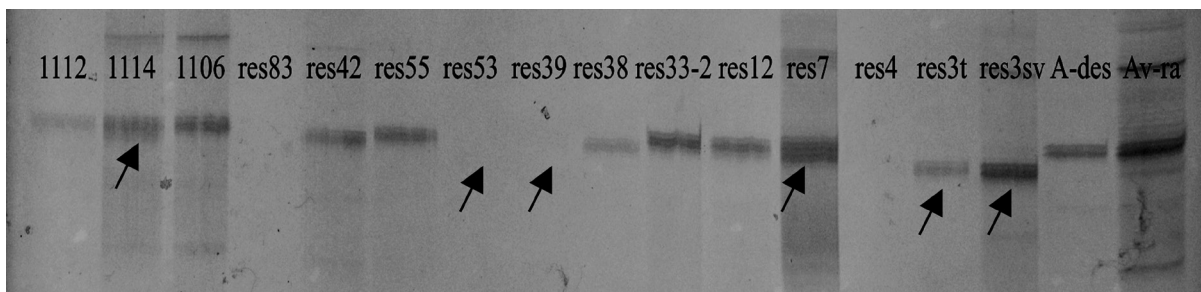


Рис. 4. Електрофоретичні спектри ліній – похідних Авродесу за мікросателітним локусом *Xbarc173* (6DS): Av-ra – сорт пшениці м'якої Аврора; A-des – амфідиплоїд Авродес; res – номери ліній

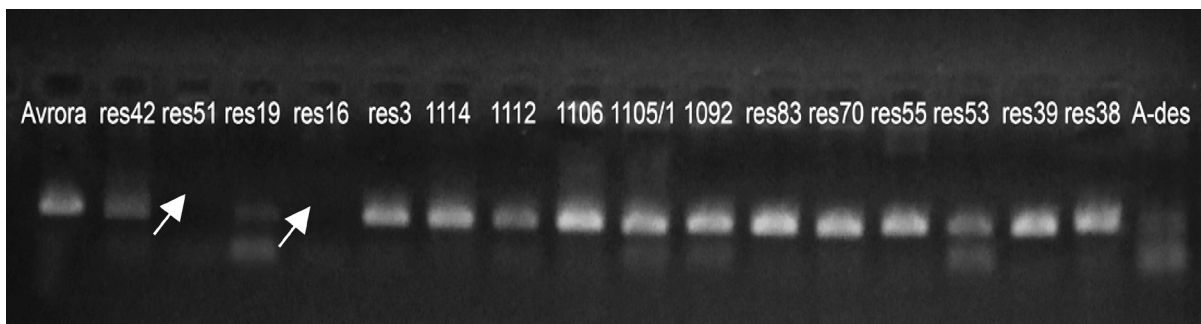


Рис. 5. Електрофоретичні спектри ліній – похідних Авродесу за мікросателітним локусом *Xcfd18*, локалізованим на 5DS хромосомі: Avroga – сорт пшениці м'якої Аврора; A-des – амфідиплоїд Авродес; res – номери ліній

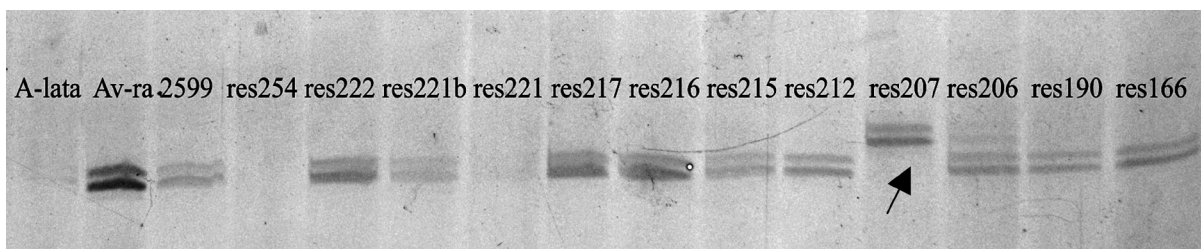


Рис. 6. Електрофоретичні спектри ліній – похідних Авролати за мікросателітним локусом *Xbarc111* (7DL): Avroga – сорт пшениці м'якої Аврора; A-lata – амфідиплоїд Авролати; res – номери ліній

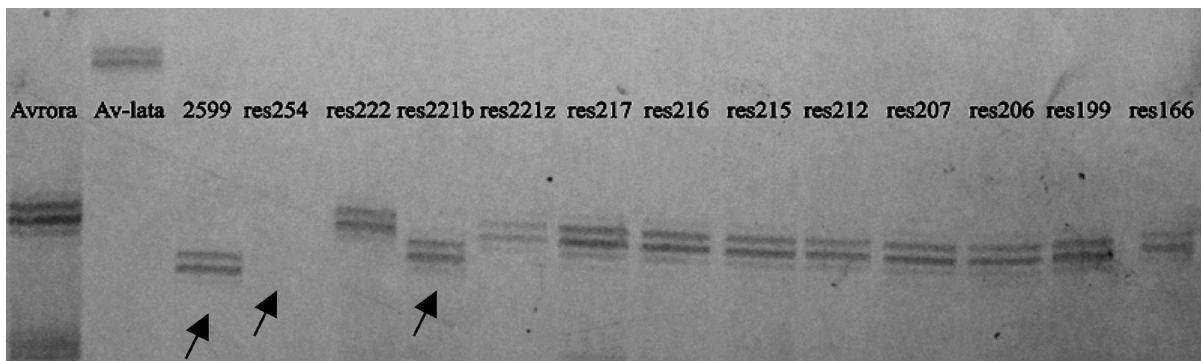


Рис. 7. Електрофоретичні спектри ліній – похідних Авролати за мікросателітним локусом *Xbarc172* (7DL): Avrora – сорт пшениці м'якої Аврора; Av-lata – амфідиплоїд Авролати; res – номери ліній

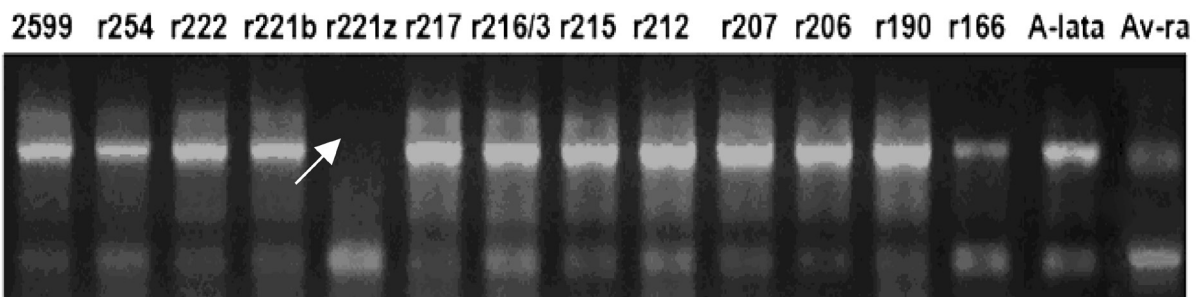


Рис. 8. Електрофоретичні спектри ліній – похідних Авролати за мікросателітним локусом *Xcfd17* (2DS): Avrora – сорт пшениці м'якої Аврора; Av-lata – амфідиплоїд Авролати; res – номери ліній

припущення, що в результаті інтрогресії в жодній з ліній не відбулося заміщення цілої хромосоми або окремих плечей хромосом на чужинні. Характер виявлених поліморфізмів виходить за межі очікуваних, притаманних батьківським формам, а отже не може бути поясненим лише прямою інтрогресією чужинного хроматину до геному пшениці м'якої. Імовірно, що частина нововиявлених поліморфізмів може бути наслідком внутрішньогеномних змін, генетичних та епігенетичних, викликаних «геномним шоком» у результаті міжвидової гібридизації, який відбувається при створенні гібридів [14–16].

Серед виявлених поліморфізмів, що виходять за межі мінливості, окреслених для батьківських фенотипів, спостерігали: гетерозиготні спектри з наявними компонентами від обох батьківських форм (рис. 2, 5, 8); спектри, частково ідентичні до одного з батьків, проте з відсутнім одним або більше компонентами (рис. 4, 9); окремі спектри з новими компонентами, відмінними від обох батьківських спектрів (рис. 4, 5, 6, 7); нові гетерозиготні спектри, які включали компоненти, ідентичні одній із батьківських форм, та нові компоненти; нуль-алель або повна відсутність компонента у спектрі (рис. 1, 2, 3, 5).

Гетерозиготний спектр, якому притаманні компоненти, властиві спектрам сорту Аврора та відповідному амфідиплоїду, може свідчити про

стабілізовану успадковану інтрогресію ділянки чужинного хроматину у відповідному локусі принаймні в одній із гомологічних хромосом. Спостереження спектра, повністю ідентичного до спектра відповідного амфідиплоїда, також можна сприймати як доказ успішної інтрогресії, що зачіпає такий мікросателітний локус у відповідних гомологічних хромосомах.

Одним із пояснень зникнення компонента (рис. 4, 5, 8) може слугувати досліджена тенденція до елімінації повторюваних тандемних послідовностей ДНК під час стабілізації геномів новосформованих гібридів [17]. Нульовий алель у спектрі за мікросателітним локусом може бути спричинений змінами в нуклеотидних послідовностях, фланкуючих мікросателітний повтор, на основі яких синтезуються праймери [18]. Наявність нового компонента в електрофореграмі свідчить про зміну довжини послідовності мікросателіта, що може відбуватися через делеції, інсерції або дуплікації, зокрема через активацію транспозонів [19]. Враховуючи природу створених ліній, можливими причинами їхніх внутрішньогеномних перебудов можуть бути аберантна дія гаметоцидних генів для ліній – похідних Аврозису [20,21], та дія генів-супресорів *Ph*-системи (*Su1-Ph1*, *Su2-Ph1*, *QPh.ucd-5S*), яка контролює гомологічну кон'югацію хромосом, – для ліній – похідних Авродесу [22].

Під час вивчення ліній – похідних усіх трьох амфідиплоїдів – спостерігали велику кількість нових алелів, зокрема утворення 0-алелів, коли такий алель не був властивий жодному з компонентів вихідного схрещування. Із 44 проаналізованих поліморфних локусів виникнення нових алелів для всіх досліджуваних ліній не спостерігалось за п'ятьма: *Xcfd92*-1DS, *Xcfd8*-5DL, *Xwmc434*-5DL, *Xcfd60*-6DL, *Xcfd41*-7DS. Вони всі розташовані всередині плечей хромосом.

Три досліджувані лінії – похідні Аврозису – *res113*, *res141* та *res143* – було проаналізовано за 44 відібраними мікросателітними маркерами (табл. 1). Найбільшим поліморфізмом характеризувались SSR-локуси хромосоми 2D з високою частотою гетерозиготних спектрів для ДНК ліній.

Можливо, це пов'язано з тим, що на хромосомі 2S *Ae. sharonensis* локалізований гаметоцидний ген [23], який міг викликати хромосомні перебудови в лініях, що цей ген містили. Загалом, практично для всіх застосованих мікросателітних локусів спостерігався індивідуальний характер поліморфізму щодо виникнення окремих нових компонентів, або нових компонентів на фоні ідентичних батьківським спектрам. З отриманих результатів мікросателітного аналізу можна припустити, що лінія *res113* має перебудови в хромосомах 5DL та 2DL (табл. 1 та рис. 9), лінія *res141* – у хромосомах 1DS та 2DL, лінія *res143* – 1DS, 2DL, 5DL та 6DL. Спільною для трьох ліній є наявність перебудов плеча 2DL, можливо, за участю чужинного хроматину.

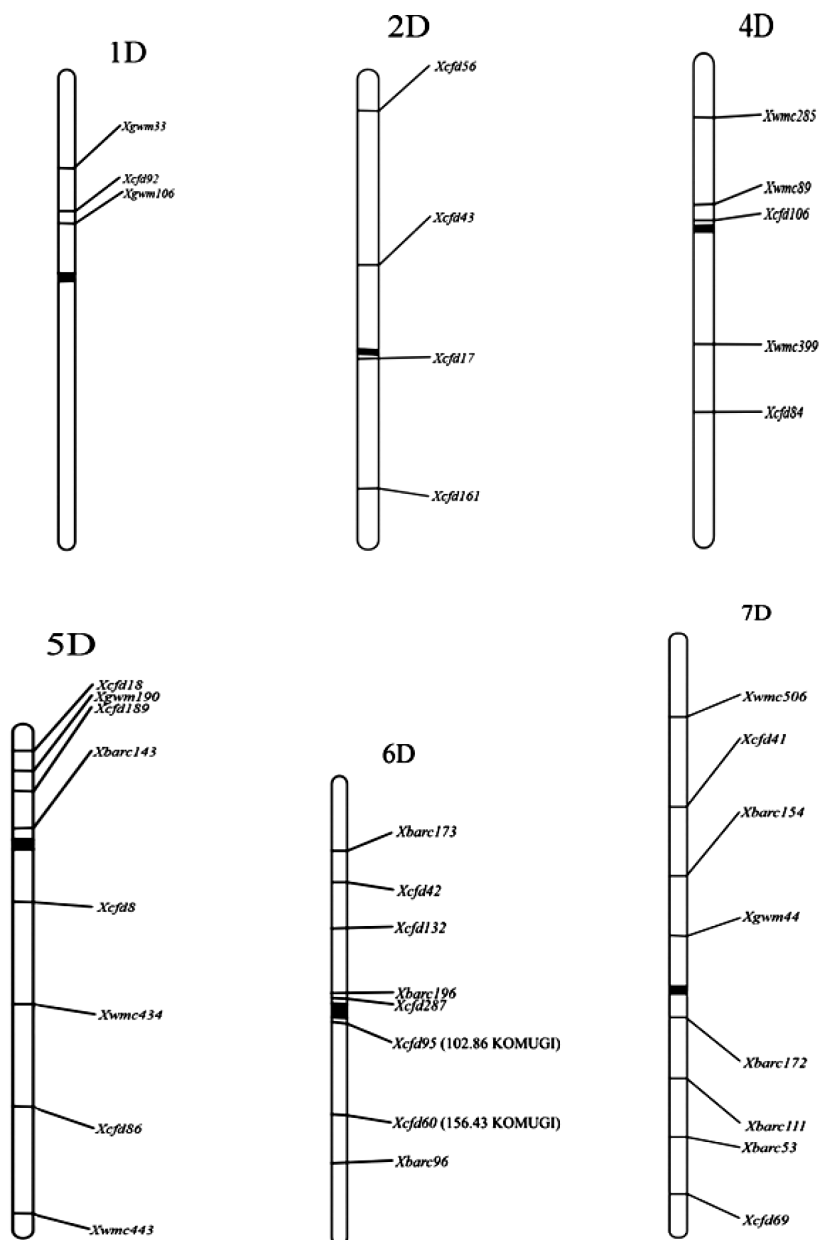


Рис. 9. Хромосомна локалізація мікросателітних локусів [11–13]

Таблиця 1. Мінливість за SSR-локусами в інтрогресивних лініях – похідних Аврозису

	Алель	Батьківський	Новий	0-алель	Гетерозигота
SSR-локус					
SSR-локуси локалізовані на 1D	<i>Xgwm33-1DS</i>	1	0	0	2
	<i>Xcfd192-1DS</i>	3	0	0	0
	<i>Xgwm106-1DS</i>	3	0	0	0
SSR-локуси локалізовані на 2D	<i>Xcfd56-2DS</i>	0	3	0	0
	<i>Xcfd43-2DS</i>	0	0	0	3
	<i>Xcfd17-2DL</i>	3	0	0	0
	<i>Xcfd161-2DL</i>	0	0	0	3
SSR-локуси локалізовані на 3D	<i>Xcfd152-3D</i>	1	2	0	0
	<i>Xcfd55-3D</i>	1	2	0	0
	<i>Xcfd141-3D</i>	3	0	0	2
	<i>Xcfd64-3D</i>	3	0	0	0
	<i>Xcfd34-3D</i>	2	1	0	0
	<i>Xcfd201-3D</i>	2	0	0	1
	<i>Xcfd223-3D</i>	3	0	0	0
	<i>Xcfd9-3D</i>	3	0	0	0
	<i>Xcfd211-3D</i>	3	0	0	0
	<i>Xwmc552-3D</i>	3	0	0	0
	<i>Xgdm72-3D</i>	2	1	0	0
SSR-локуси локалізовані на 4D	<i>Xwmc285-4DS</i>	0	0	0	2
	<i>Xwmc89-4DS</i>	2	0	0	0
	<i>Xcfd106-4DS</i>	3	0	0	0
	<i>Xwmc399-4DL</i>	2	0	0	0
	<i>Xwmc84-4DL</i>	2	1	0	0
SSR-локуси локалізовані на 5D	<i>Xcfd18-5DS</i>	2	0	0	0
	<i>Xgwm190-5DS</i>	3	0	0	0
	<i>Xcfd189-5DS</i>	0	0	0	2
	<i>Xbarc143-5DS</i>	3	0	0	0
	<i>Xcfd8-5DL</i>	2	0	0	0
	<i>Xwmc434-5DL</i>	2	0	0	0
	<i>Xcfd86-5DL</i>	3	0	0	0
	<i>Xwmc443-5DL</i>	1+1	1	0	0
SSR-локуси локалізовані на 6D	<i>Xbarc173-6DS</i>	2	0	0	1
	<i>Xcfd42-6DS</i>	0	1	2	0
	<i>Xcfd132-6DS</i>	2	1	0	0
	<i>Xbarc196-6DS</i>	2	1	0	0
	<i>Xcfd287-6DS</i>	1	2	0	0
	<i>Xcfd95-6DL</i>	3	0	0	0
	<i>Xcfd60-6DL</i>	2	1	0	0
	<i>Xbarc96-6DL</i>	2	1	0	0
SSR-локуси локалізовані на 7D	<i>Xwmc506-7DS</i>	3	0	0	0
	<i>Xcfd41-7DS</i>	3	0	0	0
	<i>Xbarc154-7DS</i>	2	1	0	0
	<i>Xgwm44-7DS</i>	2	0	0	1
	<i>Xbarc172-7DL</i>	1	2	0	0
	<i>Xbarc111-7DL</i>	3	0	0	0
	<i>Xbarc53-7DL</i>	3	0	0	0
	<i>Xcfd69-7DL</i>	3	0	0	0

Для ліній – похідних Авродесу (табл. 2) спостерігалось утворення нових гетерозиготних спектрів із новими компонентами на фоні компонентів, ідентичних спектру Аврори за 17 локусами, розташованими на всіх досліджуваних хромосомах. Для більшості ліній – похідних Авродесу реєстрували високу частоту наявності

алеля, ідентичного генотипу Авродесу, за локусами *Xcfd43*, розташованого всередині плеча 2DS хромосоми; за всіма локусами, специфічними для обох плечей хромосоми 3D, за локусами *Xwmc285* та *Xwmc399*, розташованими всередині короткого та довгого плеча 4D хромосоми, відповідно; *Xcfd95*, локалізованого в прицентромерному

регіоні 6DL хромосоми (табл. 2, рис. 9). Спільними для множини вивчених ліній – похідних Авродесу були зміни в мікросателітній характеристиці хромосом 3D та 6D. Це дає підстави припустити, що ген стійкості до борошнистої роси від Авродесу був перенесений до складу геному інтрогресивних ліній саме в ці хромосоми.

Результати мікросателітного аналізу ліній – похідних Авролати наведено в табл. 3. ДНК амфідиплоїда Авролата не ампліфікувалась із праймерами локусів *Xcfd56-2D*, *Xcfd106-1D*, *Xcfd152-3D*, *Xcfd55-3D*, *Xcfd141-3D*, *Xcfd64-3D*, *Xwmc552-3D*, *Xgdm72-3D*, *Xgwm190-5DS*, *Xbarc143-5DS*, *Xcfd8-5DL*, *Xwmc443-5DS-L*,

Таблиця 2. Мінливість за SSR-локусами в інтрогресивних лініях – похідних Авродесу

	Алель	Батьківський	Новий	0-алель	Гетерозигота
SSR-локус					
SSR-локуси локалізовані на 1D	<i>Xgwm33-1DS</i>	15	0	0	9
	<i>Xcfd192-1DS</i>	24	0	0	0
	<i>Xgwm106-1DS</i>	6	0	0	18
SSR-локуси локалізовані на 2D	<i>Xcfd56-2DS</i>	16	8	0	0
	<i>Xcfd43-2DS</i>	21	0	0	3
	<i>Xcfd17-2DL</i>	2	1	1	20
	<i>Xcfd161-2DL</i>	3	0	1	20
SSR-локуси локалізовані на 3D	<i>Xcfd152-3D</i>	19	5	0	0
	<i>Xcfd55-3D</i>	16	4	0	4
	<i>Xcfd141-3D</i>	24	0	0	0
	<i>Xcfd64-3D</i>	20	4	0	0
	<i>Xcfd34-3D</i>	19	5	0	0
	<i>Xcfd201-3D</i>	24	0	0	0
	<i>Xcfd223-3D</i>	13	1	0	0
	<i>Xcfd9-3D</i>	24	0	0	0
	<i>Xcfd211-3D</i>	23	1	0	0
	<i>Xwmc552-3D</i>	11	13	0	0
SSR-локуси локалізовані на 4D	<i>Xwmc285-4DS</i>	12+1	0	2	8
	<i>Xwmc89-4DS</i>	17	0	1	5
	<i>Xcfd106-4DS</i>	22	2	0	0
	<i>Xwmc399-4DL</i>	21	0	2	0
	<i>Xwmc84-4DL</i>	17	6	1	0
SSR-локуси локалізовані на 5D	<i>Xcfd18-5DS</i>	19	1	2	2
	<i>Xgwm190-5DS</i>	18	3	0	3
	<i>Xcfd189-5DS</i>	3	0	3	18
	<i>Xbarc143-5DS</i>	12	1	0	11
	<i>Xcfd8-5DL</i>	24	0	0	0
	<i>Xwmc434-5DL</i>	20	0	4	0
	<i>Xcfd86-5DL</i>	19	1	3	1
	<i>Xwmc443-5DL</i>	5+18	0	0	1
SSR-локуси локалізовані на 6D	<i>Xbarc173-6DS</i>	11	7	4	2
	<i>Xcfd42-6DS</i>	24	0	0	0
	<i>Xcfd132-6DS</i>	20	0	3	1
	<i>Xbarc196-6DS</i>	15	7	1	1
	<i>Xcfd287-6DS</i>		0	0	0
	<i>Xcfd95-6DL</i>	24	0	0	0
	<i>Xcfd60-6DL</i>	19	2	3	0
	<i>Xbarc96-6DL</i>	17	2	4	1
SSR-локуси локалізовані на 7D	<i>Xwmc506-7DS</i>	16	7	1	0
	<i>Xcfd41-7DS</i>	17	0	7	0
	<i>Xbarc154-7DS</i>	23	1	0	0
	<i>Xgwm44-7DS</i>	9	7	1	7
	<i>Xbarc172-7DL</i>	9	7	5	3
	<i>Xbarc111-7DL</i>	16	8	0	0
	<i>Xbarc53-7DL</i>	24	0	0	0
	<i>Xcfd69-7DL</i>	21	3	0	0

Xcfd41-7D, *Xbarc111-7D*, *Xbarc53-7D*, *Xcfd69-7D* та по всіх відібраних локусах на хромосомі 6D.

Серед 13 вивчених ліній часто констатували наявність алелів, властивих Аврлаті, для локусів *Xgwm106-1DS*, *Xcfd43-2DS*, *Xcfd17-2DL*, *Xcfd34-3D*, *Xcfd211-3D*, *Xcfd42-6D*, *Xcfd287-6D*. Для 9 ліній із 13 спостерігали сполучення 2 та 3

із вказаних хромосомних маркерів. Враховуючи ці результати, можна припустити, що до генотипів ліній-похідних були привнесені або різні гени стійкості від U генотипу, або один і той самий ген стійкості, але до різних хромосом пшениці.

Загалом, порівняльний мікросателітний аналіз ДНК інтрогресивних ліній, стійких до

Таблиця 3. Мінливість за мікросателітними локусами в інтрогресивних лініях – похідних Аврлати

Хромосома	Алель		Батьківський	Новий	0-алель	Гетерозигота
	SSR-локус					
SSR-локуси локалізовані на 1D	<i>Xgwm33-1DS</i>		4	2	0	7
	<i>Xcfd192-1DS</i>		13	0	0	0
	<i>Xgwm106-1DS</i>		9	1	0	3
SSR-локуси локалізовані на 2D	<i>Xcfd56-2DS</i>		13	0	0	0
	<i>Xcfd43-2DS</i>		4	0	0	9
	<i>Xcfd17-2DL</i>		12	0	0	1
	<i>Xcfd161-2DL</i>		12	0	1	0
SSR-локуси локалізовані на 3D	<i>Xcfd152-3D</i>		10	3	0	0
	<i>Xcfd55-3D</i>		4	8	1	0
	<i>Xcfd141-3D</i>		13	0	0	0
	<i>Xcfd64-3D</i>		11	2	0	0
	<i>Xcfd34-3D</i>		7	6	0	0
	<i>Xcfd201-3D</i>		13	0	0	0
	<i>Xcfd223-3D</i>		13	0	0	0
	<i>Xcfd9-3D</i>		13	0	0	0
	<i>Xcfd211-3D</i>		11	2	0	0
	<i>Xwmc552-3D</i>		7	6	0	0
	<i>Xgdm72-3D</i>		8	5	2	2
SSR-локуси локалізовані на 4D	<i>Xwmc285-4DS</i>		0	0	1	11
	<i>Xwmc89-4DS</i>		11	0	0	1
	<i>Xcfd106-4DS</i>		12	0	0	0
	<i>Xwmc399-4DL</i>		2	0	0	10
	<i>Xwmc84-4DL</i>		12	0	0	0
SSR-локуси локалізовані на 5D	<i>Xcfd18-5DS</i>		2	2	0	8
	<i>Xgwm190-5DS</i>		12	1	0	0
	<i>Xcfd189-5DS</i>		11	0	1	0
	<i>Xbarc143-5DS</i>		10	3	0	0
	<i>Xcfd8-5DL</i>		13	0	0	0
	<i>Xwmc434-5DL</i>		13	0	0	0
	<i>Xcfd86-5DL</i>		8	1	4	0
	<i>Xwmc443-5DL</i>		13	0	0	0
SSR-локуси локалізовані на 6D	<i>Xbarc173-6DS</i>		8	5	0	0
	<i>Xcfd42-6DS</i>		9	4	0	0
	<i>Xcfd132-6DS</i>		9	4	0	0
	<i>Xbarc196-6DS</i>		7	5	0	1
	<i>Xcfd287-6DS</i>		13	0	0	0
	<i>Xcfd95-6DL</i>		13	0	0	0
	<i>Xcfd60-6DL</i>		13	0	0	0
	<i>Xbarc96-6DL</i>		6	7	0	0
SSR-локуси локалізовані на 7D	<i>Xwmc506-7DS</i>		12	0	1	0
	<i>Xcfd41-7DS</i>		13	0	0	0
	<i>Xbarc154-7DS</i>		9	3	1	0
	<i>Xgwm44-7DS</i>		7	3	3	0
	<i>Xbarc172-7DL</i>		10	2	1	0
	<i>Xbarc111-7DL</i>		12	1	0	0
	<i>Xbarc53-7DL</i>		11	2	0	0
	<i>Xcfd69-7DL</i>		13	0	0	0

борошністої роси, для всіх груп ліній, похідних різних геномно-заміщених амфідиплоїдів, показав поліморфізм електрофоретичних спектрів, який виходить за межі батьківських форм ініціальних гібридів, які дали початок лініям. Спостерігалися спектри, частково ідентичні до спектра одного з батьків, проте з відсутнім одним або більше компонентами, окремі спектри з новими компонентами, відмінними від обох батьківських спектрів, нові гетерозиготні спектри, які включали компоненти, ідентичні одній із батьківських форм, та нові компоненти, нуль-алель або повна відсутність компонента у спектрі. Враховуючи, що жодна з досліджуваних ліній за своїм набором мікросателітних локусів за всіма досліджуваними хромосомами не відповідає ані Аврорі, ані амфідиплоїду, від якого пішла, можна зробити висновок, що в жодній з ліній не відбулося заміщення цілої хромосоми або окремих плечей хромосом на чужинні. Отже, ті інтрогресії, що відбулися, мають вигляд транслокацій. Результати мікросателітного аналізу зіставляли з морфологічною характеристикою ліній за низкою ознак, що для них відома хромосомна локалізація критичних генів. Це воскова осуга (гени локалізовані в хромосомах 1-ї та 2-ї гомеологічних груп), темне забарвлення зрілого колоса (гени локалізовані в хромосомах 1-ї та 5-ї груп), жорстка луска та вдавленість основи луски (гени локалізовані в хромосомі 2D), наявність остей (хромосом 6-ї групи) [24]. Результати такого зіставлення непрямым чином підтверджують зроблений висновок про мозаїчну будову хромосом у геномах досліджених ліній із залученням різних

транслокацій (рекомбінацій) чужинних хромосом із різних гомеологічних груп, а також гомеологічну належність цих транслокацій, виявлену мікросателітним аналізом. Загалом, на нашу думку, мікросателітний аналіз не є надійним інструментом вивчення будови геному інтрогресивних похідних, передовсім через генетичну мінливість усередині геномів гібридного походження, яка знижує діагностичні компетентності алелів мікросателітних маркерів, властивих вихідним компонентам схрещування.

Висновки

Досліджені мікросателітні маркери, задекларовані в літературних джерелах як специфічні до геному D пшениці м'якої, виявили специфічність до відповідних гомеологічних груп у цілому. Всі вивчені інтрогресивні лінії стосовно реципієнтного генотипу Аврора характеризуються алельним поліморфізмом за різною кількістю мікросателітних локусів, локалізованих у всіх семи хромосомах субгеному D. Поліморфізм включає нові компоненти у спектрах ампліфікації, які відрізняються від компонентів спектрів як Аврори, так і геномно-заміщених амфідиплоїдів. Це може бути свідченням внутрішньогеномних перебудов інтрогресивних ліній. На підставі отриманих результатів мікросателітного аналізу висунуто припущення щодо можливого зв'язку генів стійкості з хромосомами гомеологічних груп 3 та 6 у лінії – похідних Авродесу, 1, 2, 3, 6 – похідних Авролати та групи 2 у похідних Аврозису.

Список літератури

- Bennett FGA. Resistance to powdery mildew in wheat: a review of its use in agriculture and breeding programmes. *Plant Pathol.* 1984;33:279–300.
- Michelmore RW, Meyers BC. Clusters of resistance genes in plants evolve by divergent selection and birth-and-death process. *Genome Res.* 1998;8:1113–30.
- Conner RL, Kuzyk AD, Su H. Impact of powdery mildew on the yield of soft white spring wheat cultivars. *Can J Plant Sci.* 2003;83:725–8.
- McIntosh RA, Yamazaki Y, Dubcovsky J, Rogers J, Morris C, Somers DJ, et al. Catalogue of gene symbols for wheat. 2013. In: KOMUGI-integrated wheat science database at <http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/download.jsp>. Accessed 4 April 2014.
- Olivera PD, Millet E, Anikster Y, Steffenson BJ. Genetics of resistance to wheat leaf rust, stem rust, and powdery mildew in *Aegilops sharonensis*. *GenetResist.* 2008;98(3):353–58.
- Zhang P, Dundas IS, McIntosh RA, Xu SS, Park RF, Gill BS, et al. Wheat–Aegilops Introgressions. In: Molnár-Láng M, Ceoloni C, Doležel J, editors. *Alien Introgression in Wheat*. Cytogenetics, Molecular Biology, and Genomics. New York (NY): Springer; 2015, p. 221–43.
- Ceoloni C, Kuzmanovic L, Forte P, Virili ME, Bitti A. Wheat-perennial Triticeae introgressions: major achievements and prospects. In: Molnár-Láng M, Ceoloni C, Doležel J, editors. *Alien Introgression in wheat*. Cytogenetics, Molecular Biology, and Genomics. New York (NY): Springer; 2015, p. 273–314.
- Fedak G. Alien Introgressions from wild *Triticum* species, *T. monococcum*, *T. urartu*, *T. turgidum*, *T. dicoccum*, *T. dicoccoides*, *T. carthlicum*, *T. araraticum*, *T. timopheevii*, and *T. miguschovae*. In: Molnár-Láng M, Ceoloni C, Doležel J, editors. *Alien Introgression in Wheat*. Cytogenetics, Molecular Biology, and Genomics. New York (NY): Springer; 2015, p. 191–220.
- Антонюк МЗ, Терновська ТК. Створення чужинно-заміщених ліній м'якої пшениці методом «змішування» хромосом у межах одного субгеному. *Генетика і селекція в Україні на межі тисячоліть*. Т. 2. Київ: Логос; 2001, с. 368–75.
- Методы селекции и оценки устойчивости пшеницы и ячменя к болезням в странах-членах СЭВ. *Методические рекомендации*. Прага; 1988, 321 с.
- Röder MS, Korzun V, Wendehake K, Plaschke J, Tixier M.-H., Leroy Ph, et al. A Microsatellite Map of Wheat. *Genetics.* 1998;149:2007–23.
- Röder MS, Huang X-Q, MW. Ganal. Wheatmicrosatellites: potential and implications. *Biotechnology in Agriculture and Forestry.* 2004;55:255–66.
- Somers DJ, Isaac P, Edwards K. A high-density microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet.* 2004;109:1105–14.

14. Comai L, Madlung A, Josefsson C, Tyagi A. Do the different parental 'heteromes' cause genomic shock in newly formed allopolyploids? *PhilosTrans R SocLond B BiolSci.* 2003;358:1149–55.
15. Bento M, Gustafson P, Viegas W, Silva M. Genome merger: from sequence rearrangements in triticale to their elimination in wheat-rye additionlines. *Theor Appl Genet.* 2010;121(3):489–97.
16. Parisod C, Senerchia N. Responses of transposable elements to polyploidy. In: *Plant Transposable Elements.* Grandbastien M-A, Casacuberta JM, editors. Topics in current genetics. Berlin: Springer; 2012, p. 147–68.
17. Kumar S, Friebe B, Gill BS. Fate of *Aegilops speltoides*-derived, repetitive DNA sequences in diploid *Aegilops* species, wheat-*Aegilops* amphiploids and derives chromosome addition lines. *Cytogenet Genome.* 2010;129:47–54.
18. Marais GF, Boshoff W, du Toit F. Effect of segregation distortion on genetic mapping of a PI 294994-derived Russian Wheat Aphid. *South African Journal of Plant and Soil.* 2013;24(3):178–80.
19. Senerchia N, Felber F, Parisod C. Contrasting evolutionary trajectories of multiple retrotransposons following in dependent allopolyploidy in wild wheats. *NewPhytol.* 2014;202:975–85.
20. Маньковська ОС, Терновська ТК, Антонюк МЗ. Цитологічна стабільність та життєздатність інтрогресивних ліній з гаметоїдною хромосомою 4S¹ та їх гібридів. *Наукові записки НаУКМА. Біологія та екологія.* 2009;93:23–7.
21. Olivera PD, Kolmer JA, Anikster Y, Steffenson BJ. Resistance of Sharon goatgrass (*Aegilops sharonensis*) to fungal diseases of wheat. *Plant Dis.* 2007;91:942–50.
22. Dvorak J, Deal KR, Luo M-C. Discovery and mapping of wheat *Ph1*supressors. *Genetics.* 2006;174:17–27.
23. Maan SS. Exclusively preferential transmission of an alien chromosome in wheat. *Crop Sci.* 1975;15:287–92.
24. Антонюк МЗ, Терновская ТК. Признаки морфологии растений как маркеры гомеологических групп хромосом Triticeae. *Цитол генет.* 1997;31(4):105–12.

M. Antonyuk, T. Iefimenko, A. Navalikhina

CHROMOSOME SPECIFIC MICROSATELLITE ANALYSIS OF COMMON WHEAT INTROGRESSIVE LINES RESISTANT TO POWDERY MILDEW

Aim. Determine the chromosome localization of introgressions containing alien genes for resistance to powdery mildew transferred to the wheat genome from three *Aegilops* species: *Ae. sharonensis*, *Ae. speltoides*, and *Ae. umbellulata*. **Methods.** Comparative microsatellite analysis of amplicons' spectra, derived from PCR with primers to SSR loci localized on seven chromosomes of wheat D subgenome. **Results.** Spectra of amplification of products with DNA of Aurora cultivar, genome substitution amphidiploids Aurosis, Aurodes and Aurolata, using primers to 44 microsatellite loci localized on seven chromosomes of common wheat D subgenome have been obtained. Absence of genome specificity has been determined for most of the analyzed loci. All the studied introgressive lines have been characterized by allele polymorphism for different number of microsatellite loci from all seven chromosomes of D subgenome. This polymorphism included new components in amplicons spectra, which have been different from components of Aurora and genome substituted amphidiploids. Heterozygous genotypes have been also observed. A part of polymorphic loci has been uninformative because the chromosome of genome substituted amphidiploid had null-allele for such loci. For specification of the information about homeological identity of alien chromatin in resistant lines, genes of morphological traits with known chromosome localization have been used. **Conclusions.** Screening of resistant to powdery mildew wheat introgressive lines for microsatellite loci does not allow an unambiguous identification of chromosome localization of resistance gene because of high polymorphism of microsatellite loci in the genomes of introgressive lines, and because many loci are non-informative. Assumptions have been made about possible connections of resistance genes with chromosomes of homeological groups 3 and 6 in lines derived from Aurodes; 1, 2, 3, and 6 – in lines derived from Aurolata; and homeological group 2 in lines derived from Aurosis.

Keywords: common wheat, introgressive lines, *Aegilops* species, powdery mildew, microsatellite analysis.

Матеріал надійшов 17.05.2019