

**Г. А. Чеботарь**<sup>1,3</sup> студентка,  
**С. В. Чеботарь**<sup>1</sup> канд. биол. наук, вед. науч. сотр.,  
**И. И. Моцный**<sup>2</sup> канд. биол. наук, вед. науч. сотр.,  
**Е. И. Лобанова**<sup>1</sup> млад. науч. сотр.,  
**Ю. М. Сиволап**<sup>1</sup> докт. биол. наук., директор

<sup>1</sup> Южный биотехнологический центр в растениеводстве УААН, Украина, 65036, Одесса, Овидиопольская дор., 3, e-mail: sabina-schebotar@rambler.ru,

<sup>2</sup> Селекционно-генетический институт — Национальный центр сортоизучения и семеноводства УААН, Украина, 65036, Одесса, Овидиопольская дор., 3

<sup>3</sup> Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова, Украина, 65026, Одесса, ул. Дворянская, 2

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЛИНИЙ-АНАЛОГОВ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ, РАЗЛИЧАЮЩИХСЯ ПО ВЫСОТЕ РАСТЕНИЙ

С помощью генетического и молекулярно-генетического анализа, а также теста на чувствительность проростков к гибберелловой кислоте определили аллельное состояние генов *Rht8*, *Rht-B1* и *Rht-D1* в генотипах короткостебельных линий-аналогов и рекуррентных форм пшеницы: Кооператорка, Кооператорка К-90, Кооператорка К-70, Одесская 3, Одесская 3 К-75, Одесская 51, Одесская 51 К-73, Степняк, Степняк-2К, Одесская полукарликовая, Карлик 1.

Микросателлитный анализ показал, что исследуемые линии-аналоги озимой мягкой пшеницы имеют различный процент восстановленности генофона рекуррентного родителя.

**Ключевые слова:** пшеница, молекулярные маркеры, гены короткостебельности.

Гены короткостебельности или карликовости (*Rht*) понижают высоту растений мягкой пшеницы. Согласно каталогу генов мягкой пшеницы [1], описано 20 генов короткостебельности. Наиболее активно в селекционную практику вовлечены гены *Rht-B1b*, *Rht-D1b*, *Rht-8c* [2 — 6]. Гены *Rht-B1b* и *Rht-D1b* (ранее обозначаемые как *Rht1* и *Rht2*, соответственно) локализованы на гомеологичных хромосомах 4BS и 4DS и являются гиббереллин-нечувствительными генами короткостебельности. Ген *Rht-8c* рассматривают как чувствительный к действию гибберелловой кислоты [7, 8]. С данным геном в хромосоме 2DS на расстоянии 0,6 сМ сцеплен микросателлитный локус *Xgwm261* [9], который часто используется для маркировки аллелей гена *Rht8*.

Гибберелловая кислота (ГК) — органическое вещество дитерпеноидной природы — является гормоном роста растений. Под действием ГК снимается репрессия роста растений, вызванная DELLA протеинами. Мутации, влияющие на функции DELLA протеинов и обуславливающие возникновение аллелей *Rht-B1b* и *Rht-D1b* генов короткостебельности, во времена

“Зеленой революции” использовались селекционерами для создания полукарликовых сортов [10].

Эффекты аллелей генов короткостебельности на агрономические признаки озимой мягкой пшеницы изучаются и широко дискутируются в литературе [2, 4, 11–14]. Уменьшение высоты растений до уровня высоты полукарликовой пшеницы авторы связывают с достоверным увеличением количества зерен, индекса урожайности и урожая зерна, а также с уменьшением массы зерен [15, 16].

В СГИ НЦСС созданы короткостебельные линии-аналоги старых сортов пшеницы, засухоустойчивых, но позднеспелых и нестойких к полеганию. Данные линии представляют значительный интерес для изучения эффектов аллелей генов короткостебельности на хозяйственно-ценные признаки при выращивании мягкой пшеницы в условиях юга Украины.

Цель настоящего исследования состояла в определении аллельного состава генов короткостебельности *Rht8*, *Rht-B1*, *Rht-D1* в генотипах линий с помощью молекулярных маркеров и теста на чувствительность к гибберелловой кислоте, а также в определении степени восстановления генофона рекуррентного родителя у короткостебельных аналогов.

## Материалы и методы

В работе анализировали линии-аналоги мягкой пшеницы и их рекуррентные формы: Кооператорка К-90, Кооператорка К-70 — Кооператорка; Одесская 3 К-75 — Одесская 3; Одесская 51 К-73 — Одесская 51; Степняк-2К — Степняк, а также сорта Одесская полукарликовая, Карлик 1 (UA0102183), которые служили донорами генов короткостебельности. Сорт Краснодарский карлик 1 получен путем химического мутагенеза из сорта Безостая 1. Этот сорт, согласно [17], кроме рецессивного гена короткостебельности от Безостой 1, несет еще один ген рецессивного или слабодоминантного типа, который возник в процессе мутагенеза. Сорт Одесская полукарликовая получен от скрещивания Краснодарский карлик 1 x Одесская 51.

Исследуемые линии-аналоги существенно отличаются от родительских сортов высотой растений и периодом вегетации. Последнее возможно из-за привнесения в генотип линий гена фотопериодической чувствительности *Ppd-D1a*, который согласно данным Worland и Law [7] сцеплен с геном *Rht8c* на хромосоме 2DS. При создании линий-аналогов автором (Хангильдиным В. В.) было проведено 6 беккроссов на рекуррентные формы. Также выполняли генетический анализ наследования признака “высота растений” в пяти популяциях  $F_2$ , полученных от скрещивания рекуррентных форм на линии-аналоги: Кооператорка x Кооператорка К-70; Кооператорка x Кооператорка К-90; Одесская 3 x Одесская 3 К-75; Одесская 51 x Одесская 51 К-73; Степняк x Степняк-2К. Число *Rht*-генов определяли по соотношению классов высокорослых и низкорослых растений, как описано [18]. Степень соответствия фактических данных теоретически ожидаемым в популяциях  $F_2$  оценивали по критерию  $\chi^2$ . Для определения разницы средних по высоте растений (ВР) между исходными сортами и линиями-аналогами использовали критерий Стьюдента.

ДНК выделяли из этиолированных проростков пшеницы по стандартной методике [19]. ПЦР-анализ генов короткостебельности *Rht-B1* и *Rht-D1* проводили согласно рекомендациям Ellis et al. [20]. С помощью ПЦР-анализа микросателлитного локуса *Xgwm261* определяли аллели гена *Rht8*, как описано Korzun et al. [9]. Продукты амплификации фракционировали в 10 % денатурирующем полиакриламидном геле, содержащем 8 М мочевины. Визуализацию продуктов амплификации проводили согласно рекомендациям Promega [21]. Обсчет результатов электрофореза проводили с помощью компьютерной программы “Image Master VDS”. Определение молекулярной массы фрагментов амплификации осуществляли, используя маркеры молекулярной массы pUC19/MspI и pBlueScript/MspI.

Тестирование чувствительности проростков исходных форм и линий-аналогов к действию гибберелловой кислоты (ГК) проводили по методике, описанной Börner et al. [22].

Уровень генетического полиморфизма между линиями-аналогами и рекуррентными родительскими формами определяли с помощью микросателлитного (МС) анализа локусов *Xgwm126* (5A), *Xgwm293* (7B), *Xgwm415* (5A), *Xgwm179* (5A), *Xgwm3* (3D), *Xgwm165* (4A), *Xgwm153* (1B), *Xgwm577* (7B), *Xgwm095* (2A), *Xgwm186* (5A), *Xgwm190* (5B), *Xgwm357* (1A), *Xgwm437* (7D), *Xgwm304* (5A), *Xgwm155* (3A), *Xgwm325* (6D); *Xgwm408* (5D), как рекомендовано Röder et al. [23].

## Результаты и обсуждение

В исследованиях 2008 г. нами выявлены достоверные различия между исходными сортами и их аналогами по высоте растений (табл. 1).

У линий-аналогов Кооператорка К-90 и Кооператорка К-70, созданных на основе линии из сорта Кооператорка, которая характеризовалась *Rht8a* аллелем, с помощью диагностического МС-маркера *Xgwm261* детектировали *Rht8c* аллель, идентичный аллелю отцовской формы Одесская полукарликовая. Аллель *Rht8c* выявили также у Одесской 51, Карлика 1 и у линий-аналогов Одесская 3 К-75, Одесская 51 К-73, Степняк-2К. У сорта Степняк нами в локусе *Xgwm261* детектирован аллель размером 214 п.н. (табл. 1).

Тест на чувствительность к ГК показал, что линии-аналоги Кооператорка К-70, Одесская 3 К-75, Одесская 51 К-73, Степняк-2К, а также Одесская полукарликовая и Карлик 1 не чувствительны к действию гибберелловой кислоты (рис. 1).

При помощи аллель-специфичной ПЦР с праймерами к генам *Rht-D1* (4D) и *Rht-B1* (4B) установлено, что *Rht-B1b* аллель представлен в генотипе линии-аналога Одесская 3 К-75 (рис. 2), аллель *Rht-D1b* — в генотипах Степняка-2К и Одесской 51 К-73 (табл. 1).

Высота растений в 2008 г. у Кооператорки была на 20,7 % больше, чем у ее аналога Кооператорки К-90, и на 48,1 %, чем у Кооператорки К-70. Установлено, что в отличие от сорта Кооператорка линии-аналоги Кооператорка К-90 и Кооператорка К-70 содержат ген короткостебельности *Rht8c*.

Кроме того, проростки линии-аналога Кооператора К-70 обнаруживали нечувствительность к ГК, а ПЦР с праймерами к локусам *Rht-B1* и *Rht-D1* не выявили аллель *b*, который характерен для нечувствительных генотипов. Исходя из родословной линии Кооператора К-70 [(Кооператорка х Одесская полукарликовая) х Кооператорка<sup>6</sup>] F<sub>∞</sub> в данном генотипе может присутствовать аллель *Rht-B1e*, что согласуется с данными гиббереллового теста и ПЦР-анализа.

Таблица 1

Аллельная характеристика генов короткостебельности исследуемых генотипов

Линии-аналоги	ВР, см (2008 г.) x ± Sx	<i>Rht8</i>	<i>Rht-B1</i>	<i>Rht-D1</i>	Чувствительность к действию ГК
Кооператорка	147,0 ± 4,5	<i>Rht8a</i>	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	Ч
Кооператорка К-90	116,6 ± 3,9	<i>Rht8c</i>	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	Ч
Кооператорка К-70	76,3 ± 3,2	<i>Rht8c</i>	<i>Rht-B1e</i>	<i>Rht-D1a</i>	Н
Одесская 3	135,9 ± 2,7	<i>Rht8a</i>	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	Ч
Одесская 3 К-75	102,5 ± 2,5	<i>Rht8c</i>	<i>Rht-B1b</i>	<i>Rht-D1a</i>	Н
Одесская 51	112,1 ± 1,7	<i>Rht8c</i>	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	Ч
Одесская 51 К-73	86,2 ± 8,1	<i>Rht8c</i>	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1b</i>	Н
Степняк	121,5 ± 0,7	<i>Rht8x</i> 214 п.н.	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1a</i>	Ч
Степняк-2К	94,6 ± 2,7	<i>Rht8c</i>	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht-D1b</i>	Н
Одесская полукарликовая	74,6 ± 2,8	<i>Rht8c</i>	<i>Rht-B1e</i>	<i>Rht-D1a</i>	Н
Карлик 1	81,7 ± 1,2	<i>Rht8c</i>	<i>Rht-B1b</i>	<i>Rht-D1a</i>	Н

Примечание: Ч — чувствительна; Н — нечувствительна.

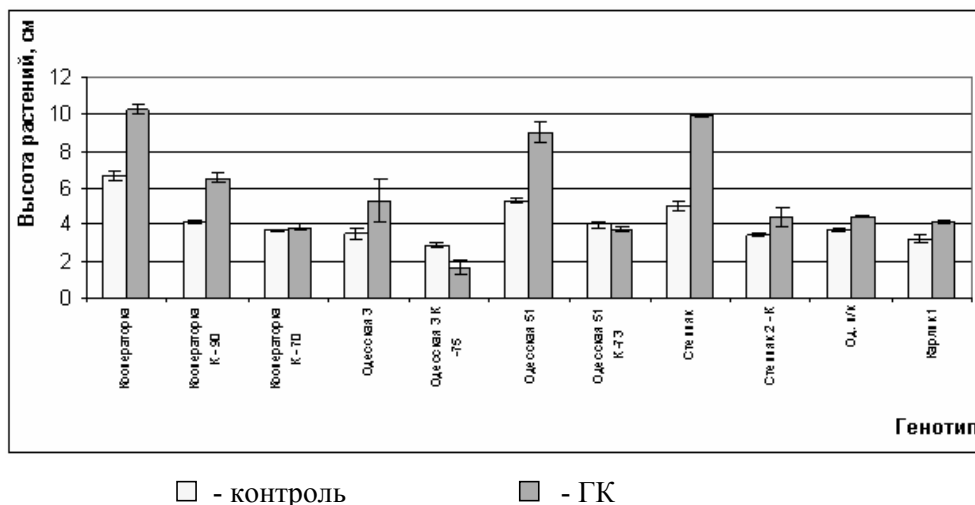


Рис. 1. Чувствительность к гибберелловой кислоте у генотипов, различающихся генами короткостебельности с указанием ошибки средней

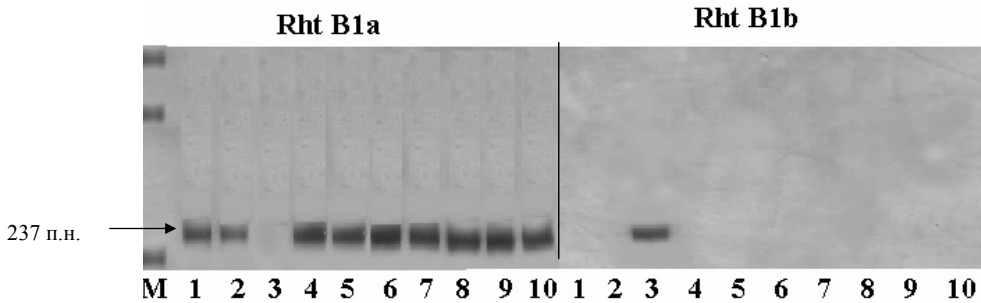


Рис. 2. Электрофоретическое разделение в 10 % ПААГ продуктов амплификации, полученных в ходе ПЦР ДНК сортов и их аналогов с аллель-специфичными праймерами к локусу *Rht-B1*: М — маркер молекулярной массы pBlueScript/MspI, 1. Степняк-2К; 2. Одесская 3; 3. Одесская 3 К-75; 4. Кооператорка; 5. Кооператорка К-90; 6. Кооператорка К-70; 7. Одесская 51 К-73; 8. Одесская полукарликовая; 9. Степняк; 10. Одесская 51

По данным генетического анализа, в популяциях  $F_2$  от скрещиваний Кооператорка х Кооператорка К-90; Кооператорка х Кооператорка К-70 показано менделевское расщепление 15:1 ( $\chi^2 = 0,09$ ;  $P=0,76$ ) и 63:1 ( $\chi^2 = 0,09$ ;  $P=0,77$ ) (табл. 2).

Таблица 2

Расщепление гибридов  $F_2$  по высоте растений

Комбинация скрещивания	Количество растений		Соответствие гипотезе	$\chi^{2*}$	p
	высокорослых	низкорослых			
Кооператорка х Кооператорка К-90	3	54	1 / 15	0,09	75,8
Кооператорка х Кооператорка К-70	1	85	1 / 63	0,09	76,5
Одесская 3 х Одесская 3 К-75	5	71	1 / 15	0,01	90,6
Одесская 51 х Одесская 51 К-73	5	32	1 / 3	2,26	10,7
Степняк х Степняк-2К	4	57	1 / 15	0,01	92,1

Примечание: \*Критическое значение  $\chi^2=3,84$  при  $df=1$ ;  $P=0,05$

Несмотря на то, что у линии-аналога Кооператорка К-90 методом ПЦР-анализа детектировали один ген короткостебельности (*Rht-8c*), а у линии-аналога Кооператорка К-70 — два гена короткостебельности (*Rht-8c* и *Rht-B1e*), по формуле расщепления на высокорослые и низкорослые растения в  $F_2$  можно сделать вывод, что в генотипе Кооператорки К-90 присутствует два гена, а в генотипе Кооператорки К-70 — более двух генов короткостебельности. Таким образом, не исключено, что часть генов, понижающих высоту растений и присутствующих у обеих исследованных линий-аналогов, не удалось определить с помощью используемых в работе молекулярных маркеров.

МС-анализ исследуемых линий-аналогов детектировал разного уровня генетический полиморфизм у изучаемых генотипов. Так, для линий-ана-

логов Кооператорка, Кооператорка К-90 и Кооператорка К-70 был выявлен полиморфизм по микросателлитным локусам *Xgwm325* (6D), *Xgwm293* (7B), *Xgwm437* (7D). На рис. 4 показано электрофоретическое распределение продуктов амплификации по локусу *Xgwm577* для генотипов Кооператорка, Кооператорка К-90, Кооператорка К-70. По локусам *Xgwm126* (5A), *Xgwm415* (5A), *Xgwm3* (3D), *Xgwm179* (5A), *Xgwm165* (4A), *Xgwm153* (1B) исследованные генотипы не выявляли полиморфизма. Процент восстановления генофона рекуррентного родителя, согласно МС-тестирования, для линии-аналога Кооператорка К-90 составил 54,5, а для линии-аналога Кооператорка К-70 — 63,6. Низкий процент восстановления генофона рекуррентного родителя после шести беккроссов можно объяснить полиморфизмом рекуррентного родителя или отбором агрономически ценных форм при беккроссировании, что могло значительно снизить эффективность насыщения [24].

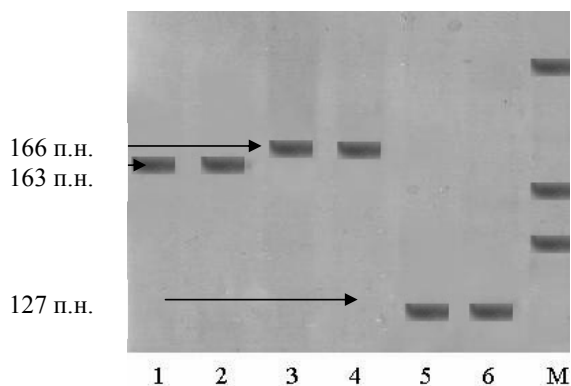


Рис. 4. Электрофорез в 10 % ПААГ продуктов амплификации ДНК линий-аналогов Кооператорка, Кооператорка К-90, Кооператорка К-70 с праймером *Xgwm577* (7B): 1, 2. Кооператорка; 3, 4. Кооператорка К-90; 5, 6. Кооператорка К-70; М. – маркер молекулярной массы рUC19/MspI

По результатам молекулярно-генетического анализа Одесская 3 имеет аллели *Rht8a*, *Rht-B1a* и *Rht-D1a*, а линия-аналог Одесская 3 К-75 характеризуется аллелями генов короткостебельности *Rht8c*, *Rht-B1b*, *Rht-D1a* (табл. 1). В популяции  $F_2$  от скрещивания Одесская 3 x Одесская 3 К-75 наблюдали расщепление 15:1. Среди 76 проанализированных растений выявлено 71 низкое растение и 5 высоких растений ( $\chi^2=0,01$ ;  $P=0,91$ ) (табл. 2). Тест на чувствительность к ГК позволил оценить генотип Одесская 3 К-75 как нечувствительный к действию ГК, что согласуется с данными молекулярного анализа. Одесская 3 чувствительна к ГК в отличие от ее аналога, и при этом высота растений у Одесской 3 на 24,6 % выше, чем у линии-аналога Одесская 3 К-75. Необходимо отметить, что Одесская 3 и ее аналог Одесская 3 К-75 имеют различные аллели по локусу *Xgwm325* (6D), в то же время для этих генотипов не детектирован полиморфизм по локусам *Xgwm126* (5A); *Xgwm415* (5A); *Xgwm3* (3D); *Xgwm179* (5A); *Xgwm165*

(4А); *Xgwm153* (1В); *Xgwm186* (5А) и *Xgwm577* (7В). Рассчитанный по результатам МС-анализа процент восстановления генофона рекуррентного родителя составил 88,9. Согласно родословной, при создании этой линии было проведено шесть беккроссов.

На основании данных молекулярно-генетического анализа исследуемая линия Одесская 51 характеризуется аллелями *Rht8c*, *Rht-B1a* и *Rht-D1a*, а ее аналог Одесская 51 К-73 имеет дополнительный ген короткостебельности *Rht-D1b*. Из 37 тестированных растений популяции  $F_2$  5 растений были высокими, что соответствует ожидаемому расщеплению 3:1 ( $\chi^2=2,26$ ;  $P=0,11$ ) (табл. 2). Различия по высоте между Одесской 51 и линией-аналогом Одесская 51 К-73 составили 23,1 %. Не выявлено различий между этими двумя линиями по девяти МС-локусам. По двум локусам — *Xgwm415* (5А) и *Xgwm155* (3А) —сравниваемые генотипы различались, и, несмотря на проведение шести беккроссов, процент восстановления генофона рекуррентного родителя не превышал 81,8.

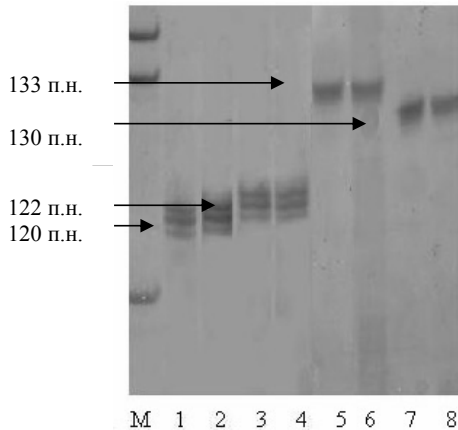


Рис. 5. Электрофорез продуктов амплификации в 10 % ПААГ ДНК сорта Степняк (1, 2, 5, 6) и линии-аналога Степняк-2К (3, 4, 7, 8) с праймерами *Xgwm095* (2А) (1, 2, 3, 4); *Xgwm577* (7В) (5, 6, 7, 8)

Генотип линии-аналога Степняк-2К характеризовался аллелем в 192 п. н. по локусу *Xgwm261*, соответственно являлся носителем *Rht8c* аллеля. Кроме того, у этого генотипа детектирован аллель *Rht-D1b*. Исходная родительская линия сорта Степняк имела аллели размером в 214 п. н. по локусу *Xgwm261* и *Rht-D1a*. Дигенный контроль короткостебельности для линии-аналога Степняк-2К был подтвержден анализом потомства  $F_2$  от скрещивания Степняк x Степняк-2К, при котором в результате исследования 61 растения выявлено 57 низкорослых и 4 высоких растения ( $\chi^2 = 0,01$ ;  $P=0,92$ ) (табл. 2), а наблюдаемое расщепление соответствовало 15:1. Разница средних по высоте растений между Степняком и его аналогом Степняк-2К составила 23,4 %. МС-анализ генотипов Степняк и Степняк-2К (рис. 5) показал наличие полиморфизма по локусам *Xgwm095* (2А);

*Xgwm577* (7B); *Xgwm190* (5B); *Xgwm357* (1A); *Xgwm437* (7D). В то же время генотипы Степняк и Степняк 2-К были идентичными при сравнении аллелей локусов *Xgwm126* (5A); *Xgwm415* (5A); *Xgwm304* (5A); *Xgwm3* (3D); *Xgwm179* (5A); *Xgwm293* (7B); *Xgwm155* (3A); *Xgwm165* (4A); *Xgwm325* (6D); *Xgwm408* (5D); *Xgwm153* (1B). Рассчитанный процент восстановления генофона рекуррентного родителя для линии-аналога Степняк-2К составляет 56,3. Согласно родословной при создании этой линии было проведено шесть беккроссов.

## Выводы

С помощью генетического и молекулярно-генетического анализа, а также теста на чувствительность проростков к гибберелловой кислоте определили количество генов короткостебельности и их аллельное состояние в генотипах линий-аналогов в сравнении с рекуррентными формами. Установлено, что Кооператорка характеризуется аллелями *Rht8a*, *Rht-B1a* и *Rht-D1a*, Кооператорка К-90 — *Rht8c*, *Rht-B1a*, *Rht-D1a* и *Rhtx\**, а Кооператорка К-70 — *Rht8c*, *Rht-B1e*, *Rht-D1a* и *Rhtx\**; Одесская 3 — *Rht8a*, *Rht-B1a* и *Rht-D1a*, а Одесская 3 К-75 — *Rht8c*, *Rht-B1b* и *Rht-D1a*; Одесская 51 — *Rht8c*, *Rht-B1a* и *Rht-D1a*, а Одесская 51 К-73 — *Rht8c*, *Rht-B1a* и *Rht-D1b*; Степняк — *Rht8*<sub>214 н.н. — Xgwm261</sub>, *Rht-B1a* и *Rht-D1a*, а Степняк-2К — *Rht8c*, *Rht-B1a* и *Rht-D1b*; Одесская полукарликовая — *Rht8c*, *Rht-B1e* и *Rht-D1a*; Карлик 1 — *Rht8c*, *Rht-B1b* и *Rht-D1a*.

Микросателлитный анализ показал, что исследуемые линии озимой мягкой пшеницы имеют различный процент восстановления генофона рекуррентного родителя. Считаю целесообразным на основе исследованных линий получить почти-изогенные линии с помощью дополнительного беккроссирования для более корректного исследования эффектов аллелей генов короткостебельности.

## Литература

1. McIntosh R. A., Yamasaki Y., Devos K. M. et. al. (2008) <http://www.grs.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/>
2. Лыфенко С. Ф., Ериняк Н. И., Федченко В. П. Связь признака высоты стебля озимой пшеницы с морозостойкостью // НТБ ВСГИ. — 1980. — №1 (35). — С. 6-9.
3. Gale M. D., Yousefian S Dwarving genes in wheat // Progress in Plant Breeding. — London: Butterworths and Co., 1985. — P. 1-35.
4. Litvinenko N. A. Breeding intensive winter bread wheat varieties for Southern Ukraine // Euphytica. — 1998. — Vol. 100. — P. 7-14.
5. Dwarving genes in Australian wheat — present and future / D. G. Bonnet, M. H. Ellis, G. J. Rebetzke [et al.] // Proceedings 10<sup>th</sup> Australian Wheat Breeders Assembly, Australia, Midura, 16-21 September, 2001. — P. 154-157.
6. Чеботарь С. В., Бёрнер А., Сиволап Ю. М. Анализ генов короткостебельности в генотипах сортов мягкой пшеницы Украины // Цитология и генетика. — 2006. — Т. 40, № 4. — С. 12-23.

*Rht*<sub>x</sub>\* — по данным генетического анализа; примененными в исследованиях молекулярными маркерами не определялся.



7. Worland A. J., Law C. N. Genetic analysis of chromosome 2D of wheat. I. The location of genes effecting height, daylength insensitivity, hybrid dwarfism and yellow rust resistance // Z.Pflanzenzchtg. — 1986. — Vol. 96. — P. 331-345.
8. Börner A., Plaschke J., Korzun V. [et al.] The relationship between the dwarfing genes of wheat and rye // Euphytica. — 1996. — Vol. 89. — P. 69-75.
9. Korzun V., Röder M. S., Ganal M. W. [et al.] Genetic analysis of the dwarfing gene (*Rht 8*) in wheat. Part I. Molecular mapping of *Rht8* on the short arm of chromosome 2D of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) // Theor. Appl. Genet. — 1998. — Vol. 96. — P. 1104-1109.
10. Ait-ali T., C. Rands, N. P. Harberd Flexible control of plant architecture and yield via switchable expression of *Arabidopsis gai* // Plant Biotechnology Journal. — 2003. — Vol. 1. — P. 337-343.
11. Крупнов В. А. Изогенный метод в изучении эффектов генов у пшеницы в Поволжье // Изогенные линии культурных растений. — Новосибирск: ИЦиГ СО АН СССР, 1991. — С. 69-80.
12. Коваль В. С. Влияние генов короткостебельности на структуру продуктивности яровой пшеницы // Всесоюзная академия сельскохозяйственных наук имени В.И. Ленина. Сельскохозяйственная биология. Серия биология растений. — М.: Агропромиздат, 1992. — № 1. — С. 69-74.
13. Файт В. И., Чеботарь С. В., Мокану Н. В., Пилипенко М. В. Эффекты аллелей гена *Rht8* по агрономическим признакам у озимой мягкой пшеницы в условиях степи юга Украины // Цитология и генетика. — 2007. — Т. 41, № 2. — С. 30-36.
14. Chapman S. C., Wang J., Rebetzke G. J. [et al.] Designing crossing and selection strategies to combine diagnostic markers and quantitative traits // 11<sup>th</sup> International Wheat Genetics Symposium (24 — 29 August 2008). — Brisbane, 2008.
15. Slafer G. A., Satorre E. H., Andrade F. H. Increases in grain yield in bread wheat from breeding and associated physiological changes // In G.A. Slafer (ed.) Genetic improvement of field crops. Marcel Dekker, Inc., New York, NY. — 1994. — P. 1-68.
16. Rebetzke G. J., Richards R. A. Gibberellic acid-sensitive dwarfing genes reduce plant height to increase kernel number and grain yield of wheat // Australian journal of agricultural research. — 2000. — Vol. 51, № 2. — P. 235-245.
17. Пшеница / под ред. Л. А. Животкова. — Киев: Урожай, 1989. — 320 с.
18. Лобачев Ю. В. Эффекты генов низкорослости у яровой мягкой пшеницы в Поволжье: автореф. дис. на соискание ученой степени кандидата биолог. Наук.: спец. 03.00.15 — “Генетика”/ Ю. В. Лобачев. — Одесса, 1988. — 18 с.
19. Использование ПЦР-анализа в генетико-селекционных исследованиях / под ред. Ю.М.Сиволапа. — Киев: Аграрна наука, 1998. — С. 8-33.
20. Ellis M. H., Spielmeier W., Gale K. R., [et al.] “Perfect” markers for the *Rht-B1b* and *Rht-D1b* dwarfing genes in wheat // Theor. Appl. Genet. — 2002. — Vol. 105. — P. 1038-1042.
21. Promega Technical Manual. Gene Print. STR Systems. Printed in USA. Revised. — Vol. 7. — 1999. — 52 p.
22. Börner A., Lehmann C. O., Mettin D. Preliminary results of screening for GA<sub>3</sub> response in wheats of the Gatersleben gene bank // Kulturpflanze. — 1987. — Vol. 35. — P. 179-186.
23. Röder M. S., Korzun V., Wendehake K. [et al.] A microsatellite map of wheat // Genetics — 1998. — Vol. 149. — P. 2007-2023.
24. Коваль С. Ф., Коваль В. С., Шаманин В. П. Изогенные линии пшеницы: Монография. — Омск:Омскбланкиздат, 2001. — 152 с.

Г. О. Чеботар<sup>1,3</sup>, С. В. Чеботар<sup>1</sup>, І. І. Моцний<sup>2</sup>, К. І. Лобанова<sup>1</sup>,  
Ю. М. Сиволап<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Південний біотехнологічний центр в рослинництві УААН, Овідіопольська дор. 3, Одеса, 65036.

<sup>2</sup>Селекційно-генетичний інститут — Національний центр насіннезнавства та сортовивчення УААН, Овідіопольська дор. 3, Одеса, 65036.

<sup>3</sup>Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, кафедра генетики та молекулярної біології, вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082.

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ ЛІНІЙ-АНАЛОГІВ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ, ЩО ВІДРІЗНЯЮТЬСЯ ВИСОТОЮ РОСЛИН

### Резюме

За допомогою генетичного та молекулярно-генетичного аналізу, а також тесту на чутливість паростків до гіберелової кислоти визначили алельний стан генів *Rht8*, *Rht-B1* та *Rht-D1* у генотипах короткостеблових ліній-аналогів, порівняно з відповідними рекурентними формами. Встановлено, що Кооператорка характеризується алелями *Rht8a*, *Rht-B1a* та *Rht-D1a*, Кооператорка К-90 — *Rht8c*, *Rht-B1a*, *Rht-D1a* та *Rhtx*, а Коператорка К-70 — *Rht8c*, *Rht-B1e*, *Rht-D1a* та *Rhtx*; Одеська 3 — *Rht8a*, *Rht-B1a* та *Rht-D1a*, а Одеська 3 К-75 — *Rht8c*, *Rht-B1a* та *Rht-D1b*; Одеська 51 — *Rht8c*, *Rht-B1a* та *Rht-D1a*, а Одеська 51 К-73 — *Rht8c*, *Rht-B1a* та *Rht-D1b*; Степняк — *Rht8*<sub>214 н.н. — Xgwm261</sub>, *Rht-B1a* та *Rht-D1a*, а Степняк-2К — *Rht8c*, *Rht-B1a* та *Rht-D1b*; Одеська напівкарликова — *Rht8c*, *Rht-B1e* та *Rht-D1a*; Карлик 1 — *Rht8c*, *Rht-B1b* та *Rht-D1a*.

Мікросателітний аналіз показав, що досліджувані лінії озимої м'якої пшениці мають різний відсоток відновленості генофону рекурентного батька. Вважаємо необхідним на основі досліджених ліній отримати майже-ізогенні лінії шляхом подальшого беккросування для більш коректного дослідження ефектів алелів генів короткостебловості.

**Ключові слова:** пшениця, молекулярні маркери, гени короткостебловості.

**G. Chebotar<sup>1,3</sup>, S. Chebotar<sup>1</sup>, I. Motsnyy<sup>2</sup>, E. Lobanova<sup>1</sup>, Yu. Sivolap<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> South Plant Biotechnology Centre UAAS, Ovidiopolskaya doroga 3, 65036, Odessa, Ukraine

<sup>2</sup> Plant Breeding and Genetic Institute — National Center of Seed and Cultivar Investigation UAAS, Ovidiopolskaya doroga 3, 65036, Odessa, Ukraine

<sup>3</sup> Odessa National Mechnikov University, Department of Genetics and Molecular Biology, Dvoryanskaya St. 2, 65082, Odessa, Ukraine

## **MOLECULAR-GENETIC ANALYSIS OF ANALOGUE-LINES, DIFFERING BY PLANT HEIGHT**

### **Summary**

Allele characteristics of *Rht8*, *Rht-B1*, *Rht-D1* — dwarfing genes have been detected using of genetic and molecular-genetic analysis and the test for gibberellic acid in genotypes of wheat analogue-lines, in comparison with the recurrent forms. It was determined that Kooperatorka is characterized by alleles *Rht8a*, *Rht-B1a* and *Rht-D1a*, Kooperatorka K-90 — *Rht8c*, *Rht-B1a*, *Rht-D1a* and *Rhtx*, but Kooperatorka K-70 — *Rht8c*, *Rht-B1e*, *Rht-D1a* and *Rhtx*; Odesskaya 3 — *Rht8a*, *Rht-B1a* and *Rht-D1a*, but Odesskaya 3 K-75 — *Rht8c*, *Rht-B1b* and *Rht-D1a*; Odesskaya 51 — *Rht8c*, *Rht-B1a* and *Rht-D1a*, but Odesskaya 51 K-73 — *Rht8c*, *Rht-B1a* and *Rht-D1b*; Stepnyak — *Rht8*<sub>214 bp — Xgwm261</sub>, *Rht-B1a* and *Rht-D1a*, but Stepnyak-2K — *Rht8c*, *Rht-B1a* and *Rht-D1b*; Odesskaya polukarlikovaya — *Rht8c*, *Rht-B1e* and *Rht-D1a*; Karlik 1 — *Rht8c*, *Rht-B1b* and *Rht-D1a*.

Microsatellite analysis has shown that analogue-lines of winter bread wheat have different percent of restoration of recurrent parent genophone. For more correct analysis of effects of dwarfing genes alleles we are developing the near-isogenic lines by additional backcrossing.

**Key words:** wheat, molecular markers, dwarfing genes.