

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ДОМИНАНТНЫХ АЛЛЕЛЕЙ ЛОКУСОВ *VRN* И ИХ КОМБИНАЦИЙ НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ФАЗ РАЗВИТИЯ И ПРОДУКТИВНОСТЬ У ЛИНИЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

© 2020 г. Е. В. Чуманова¹, *, Т. Т. Ефремова¹, Ю. В. Кручинина¹

¹Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, 630090 Россия

*e-mail: chumanova@bionet.nsc.ru

Поступила в редакцию 16.07.2019 г.

После доработки 26.08.2019 г.

Принята к публикации 03.10.2019 г.

С использованием аллель-специфичных праймеров и гибридологического анализа проведено определение аллелей локусов *VRN* и *PPD* у линий мягкой пшеницы сорта Безостая 1 (Без1). Проведено изучение продолжительности отдельных фаз развития у линий сорта Без1, несущих различные доминантные аллели генов *VRN* и их комбинации. Установлено, что у линий с комбинацией двух доминантных аллелей локуса *VRN-1*: Без1 *Vrn-A1a Vrn-B1a* и Без1 *Vrn-A1a Vrn-B1c* выявлено достоверное уменьшение продолжительности периодов “кущение—первый узел” и “всходы—колошение” по сравнению с исходными изогенными линиями: *i:Без1 Vrn-A1a*, *i:Без1 Vrn-B1a* и *i:Без1 Vrn-B1c*. Кроме того, присутствие двух доминантных аллелей приводит к сокращению времени прохождения этапов органогенеза, что показано при изучении динамики размера и морфологии конуса нарастания у линий сорта Без1. Изучение продуктивности линий сорта Без1 показало, что наиболее продуктивной среди изогенных линий оказалась линия *i:Без1 Vrn-B1c*, а линия *Без1 Vrn-A1a Vrn-B1c* была более продуктивной по сравнению с линией *Без1 Vrn-A1a Vrn-B1a*.

Ключевые слова: линии мягкой пшеницы, продолжительность фаз развития, аллели локусов *VRN-A1*, *VRN-B1* и *PPD-D1*, ПЦП-анализ, количественные признаки.

DOI: 10.31857/S0016675820070024

Мягкая пшеница (*T. aestivum* L.) является одной из основных зерновых культур мира. Она адаптирована к широкому диапазону природно-климатических условий и поэтому выращивается в различных агроэкологических зонах. Возделываемые сорта пшеницы помимо высокой урожайности и устойчивости к воздействию неблагоприятных условий среды должны соответствовать природно-климатической зоне по длительности вегетационного периода и отдельных его фаз. Изучение генов, контролирующих продолжительность вегетационного периода мягкой пшеницы, в частности время колошения и цветения, имеет большое практическое значение, поскольку аллельное разнообразие этих генов во многом определяет широкую адаптацию пшеницы к условиям внешней среды.

У пшеницы существует несколько генетических систем, определяющих переход растений от вегетативной стадии развития к генеративной, основными из которых являются гены реакции на яровизацию (*VRN*) и чувствительности к фотопериоду (*PPD*) [1, 2].

Яровизация представляет собой механизм длительного воздействия низкими положительными температурами, необходимый для перехода озимых растений от вегетативной стадии развития к генеративной. Потребность в яровизации озимых растений является важным адаптивным механизмом, позволяющим им перезимовывать в районах с низкими зимними температурами, предотвращая повреждение чувствительной к низким температурам апикальной меристемы [3, 4]. Генетическое разнообразие пшеницы по времени колошения и цветения определяется четырьмя основными генами *VRN*: *VRN-1*, *VRN-2*, *VRN-3* и *VRN-4*. Локус *VRN-1*, кодирующий MADS-бок транскрипционный фактор, обуславливающий переход клеток апикальной меристемы к генеративному развитию, представлен тремя гомеологичными генами: *VRN-A1*, *VRN-B1* и *VRN-D1*, локализованными в длинных плечах 5A, 5B и 5D хромосом соответственно [1, 3]. Локус *VRN-3* — ортолог гена *FT* арабидопсиса, картирован в коротком плече хромосомы 7B [5]. Ген *VRN-4* (ранее известный как *VRN-D4*, *VRN-D5*) представляет собой дубликацию участка длинного плеча хромосомы 5A с геном *VRN-A1* в

коротком плече хромосомы 5D [6]. Яровой тип развития пшеницы определяется присутствием хотя бы одного доминантного гена *VRN-1*, *VRN-3* или *VRN-4*, озимый тип – соответственно рецессивными аллелями в этих локусах.

Установлено неодинаковое влияние гомеологичных генов локуса *VRN-1* на чувствительность к яровизации. Наименьшая чувствительность растений к яровизации определяется геном *VRN-A1*, а генотипы с доминантными генами *VRN-B1* и *VRN-D1* более чувствительны к яровизации [7], что коррелирует с относительным уровнем экспрессии этих генов [8].

К настоящему времени описано существование серии доминантных аллелей для локусов *VRN-A1*, *VRN-B1*, *VRN-D1*, определяющих отсутствие потребности в яровизации, в отличие от рецессивных аллелей. Установлено, что аллельное разнообразие в локусе *VRN-1* обусловлено инсерциями и/или делециями в двух регуляторных районах: промоторе и первом интроне [9]. Так, большинство описанных к настоящему времени доминантных аллелей *VRN-A1*, в том числе *Vrn-A1a* и *Vrn-A1b*, характерных для сортов мягкой пшеницы, ассоциированы с мутациями в промоторном районе [10–13]. В то время как доминантные аллели локусов *VRN-B1* и *VRN-D1*, напротив, в основном связаны со структурными изменениями в первом интроне [14–19].

На основе изучения структурных особенностей разработаны аллель-специфичные праймеры [10, 14, 16, 17]. Их использование позволяет проводить быструю идентификацию аллельного состава у сортов и линий мягкой пшеницы. Также они сыграли важную роль в изучении закономерностей географического распространения различных аллелей локуса *VRN-1*.

Так, известно, что аллель *Vrn-A1a* получил широкое распространение среди яровых сортов Северной и Восточной Европы, большей части России и Западной Сибири [20–25], Канады [26], США, Аргентины и Китая [10, 15, 27].

Доминантный аллель *Vrn-B1a* характерен для сортов Аргентины, Калифорнии [14], Пакистана [28], Канады [26], США [15], стран Европы [20, 22]. Аллель *Vrn-B1c* менее распространен по сравнению с *Vrn-B1a*. Помимо российских сортов [21, 23, 24, 29] он был обнаружен в основном среди сортов Восточной, Центральной Европы и Украины [16, 22, 30].

Фотопериод также является одним из путей регуляции продолжительности вегетационного периода, который контролирует время наступления колошения и цветения в зависимости от реакции растений на длину светового дня. Чувствительность к длине дня (фотопериоду) является приспособлением, благодаря которому растения произрастают в регионах с различной длиной дня. Чувствительность к фотопериоду контролируется генами *PPD*. Основные гены чувствитель-

ности к фотопериоду (*PPD-1*): *PPD-D1*, *PPD-B1* и *PPD-A1* (ранее *PPD1*, *PPD2* и *PPD3*) у пшеницы были локализованы в коротких плечах хромосом второй гомеологической группы: 2D, 2B и 2A соответственно [1, 31, 32]. Кроме того, еще один ген *PPD* – *PPD-B2* картирован в коротком плече хромосомы 7B [33].

У большинства известных доминантных аллелей локуса *PPD-1* пшеницы, в отличие от рецессивных, выявлены делеции или инсерции в промоторной области гена [34, 35]. Нечувствительность к фотопериоду контролируется доминантными аллелями генов *PPD* и обуславливает сокращение вегетационного периода в условиях как короткого, так и длинного дня, в то время как чувствительные к фотопериоду сорта не переходят к генеративному развитию пока длина дня не достигнет определенного значения [36].

Доминантные гены *PPD* различаются по экспрессивности. Наибольшую нечувствительность к фотопериоду обеспечивает доминантный ген *PPD-D1*, затем располагаются гены *PPD-B1* и *PPD-A1* [36]. В регионах с жарким и засушливым климатом наиболее выгодно возделывать нечувствительные к фотопериоду сорта пшеницы, что позволяет растениям созревать до наступления высоких летних температур, обеспечивая получение высокой урожайности. В свою очередь, чувствительные к фотопериоду сорта наиболее адаптированы для возделывания в регионах с более прохладным и влажным климатом [32, 37].

Важным вопросом является изучение влияния разных аллелей, ассоциированных со структурными изменениями в регуляторных областях генов *VRN-1*, на сроки наступления колошения и цветения мягкой пшеницы. Установлено, что наиболее скороспелыми являются генотипы, несущие нечувствительный к яровизации доминантный аллель *Vrn-A1a*. У носителей аллеля *Vrn-A1b* колошение наступает позже, по сравнению с носителями аллеля *Vrn-A1a* [38]. С использованием серии почти изогенных линий озимого сорта Безостая 1 (Без1), полученных в ИЦиГ СО РАН [39], было показано, что аллель *Vrn-A1a* определяет более раннее колошение, чем аллели *Vrn-B1a* и *Vrn-B1c*, а аллель *Vrn-B1c*, в свою очередь, уменьшает продолжительность периода “всходы–колошение”, по сравнению с аллелем *Vrn-B1a* [40], что согласуется с данными об изучении транскрипции этих доминантных аллелей в работе [41].

Помимо влияния отдельных генов *VRN* и *PPD* на продолжительность вегетационного периода важным является изучение влияния комбинации разных аллелей *VRN* и *PPD*. В ряде работ изучены различия во времени колошения у яровых сортов, несущих различные комбинации генов *VRN* и *PPD* [22–25, 29]. Однако важным является полу-

Таблица 1. Линии по сорту Без1 с разными аллелями генов *VRN*, использованные в данной работе

Линия	Гаплоидный генотип по генам <i>VRN</i>	Донор доминантного гена <i>VRN</i>	Литературный источник
i:Без1 <i>Vrn-A1a</i>	<i>Vrn-A1a vrn-B1 vrn-D1</i>	Triple Dirk D	Ефремова (неопубл.)
i:Без1 <i>Vrn-B1a</i>	<i>vrn-A1 Vrn-B1a vrn-D1</i>	Диамант II	[39]
i:Без1 <i>Vrn-B1c</i>	<i>vrn-A1 Vrn-B1c vrn-D1</i>	Саратовская 29	[39]
i:Без1 <i>VRN-D4</i>	<i>vrn-A1 vrn-B1 vrn-D1 VRN-D4</i>	<i>T. sphaerococcum</i> Persiv. к-5498	Ефремова (неопубл.)
Без1 <i>Vrn-A1a Vrn-B1a</i>	<i>Vrn-A1a Vrn-B1a vrn-D1</i>	i:Без1 <i>Vrn-A1a</i> i:Без1 <i>Vrn-B1a</i>	[43]
Без1 <i>Vrn-A1a Vrn-B1c</i>	<i>Vrn-A1a Vrn-B1c vrn-D1</i>	i:Без1 <i>Vrn-A1a</i> i:Без1 <i>Vrn-B1c</i>	[43]

чение и изучение генотипов, несущих комбинации разных аллелей *VRN* и *PPD* в одной генотипической среде, для более глубокого исследования генетических эффектов локусов *VRN* и *PPD*.

Установлено, что различные гены *VRN* и их комбинации, влияющие на продолжительность вегетационного периода и время колошения, также могут оказывать влияние и на продуктивность мягкой пшеницы. Сорты с двумя доминантными генами *VRN-A1* и *VRN-B1* являются более скороспелыми и продуктивными, чем сорта с одним геном *VRN* [7, 42].

Поскольку известно, что тип развития большинства современных сортов России и Западной Сибири определяется двумя доминантными аллелями: *Vrn-A1a* и *Vrn-B1a* или *Vrn-B1c* [21, 23–25], нами были созданы две линии, несущие *Vrn-A1a* в сочетании с *Vrn-B1a* и *Vrn-B1c* на генетическом фоне озимого сорта Без1 [43].

В данной работе представлены результаты по влиянию разных доминантных аллелей локусов *VRN-1* и их комбинаций у линий по озимому сорту Без1 на продолжительность отдельных фаз развития, динамику формирования конуса нарастания и продуктивность в условиях лесостепной зоны Новосибирской области.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материал исследования

Материалом для исследования послужили линии озимого сорта Без1 с комбинацией двух аллелей локусов *VRN-1*: Без1 *Vrn-A1a Vrn-B1a* и Без1 *Vrn-A1a Vrn-B1c*. Данные линии были получены от скрещивания двух почти изогенных линий (i:Без1 *Vrn-B1a* и i:Без1 *Vrn-B1c*) с изогенной линией i:Без1 *Vrn-A1a*. В поколении F_2 с использованием известных аллель-специфичных праймеров для генов *VRN-A1* и *VRN-B1* были выделены гомозиготные растения с двумя доминантными аллелями генов *VRN* [43].

Кроме того, в работе использовались изогенные линии мягкой пшеницы Без1 с доминантными аллелями генов *VRN*: i:Без1 *Vrn-A1a* (донор доминантного аллеля *Vrn-A1a* изогенная линия Triple Dirk D), i:Без1 *Vrn-B1a* и i:Без1 *Vrn-B1c* (доминантные аллели от сортов Диамант II и Саратовская 29 соответственно) и i:Без1 *VRN-D4* (донор – образец к-5498 *T. sphaerococcum* Persiv. из коллекции ВИР) (табл. 1). Схемы создания изогенных линий с аллелями *Vrn-B1a* и *Vrn-B1c* были описаны ранее [39]. Изогенные линии с генами *Vrn-A1a* и *VRN-D4* получены по аналогичной методике.

Для определения генотипа двух линий с комбинацией аллелей локусов *VRN* были использованы изогенные линии А.Т. Pugsley по сорту Triple Dirk: TD D с доминантным геном *VRN-A1*, TD B с *VRN-B1*, TD E с *VRN-D1* и TD F с *VRN-D4* и изогенные линии по сорту Без1 с доминантными аллелями *Vrn-A1a*, *Vrn-B1a*, *Vrn-B1c* и *VRN-D4*. В качестве рецессивной формы был использован озимый сорт Филатовка.

Выделение ДНК и проведение ПЦР

ДНК выделяли из листьев взрослых растений согласно методике [44]. ПЦР проводили в реакционной смеси объемом 25 мкл, содержащей 50–100 нг ДНК матрицы, 1× реакционный буфер (67 mM Трис HCl (pH 8.8), 1.5 mM MgCl₂, 18 mM (NH₄)₂SO₄, 0.01% Tween 20), 200 мкМ dNTPs, по 0.25 мкМ прямого и обратного праймеров, 1 ед. *Taq*-ДНК-полимеразы (Медиген, Россия), H₂O – до конечного объема 25 мкл.

Структура использованных праймеров и условия ПЦР соответствовали опубликованному (табл. 2). Реакцию проводили на амплификаторе Bio Rad T100 Thermal Cycler (США). Продукты амплификации разделяли с помощью электрофореза в 1.5%-ном агарозном геле в 1× TAE буфере с добавлением бромистого этидия. После электрофореза гель фотографировали в ультрафиолето-

Таблица 2. Праймеры, использованные для идентификации аллелей локусов *VRN-A1*, *VRN-B1* и *PPD-D1* у линий мягкой пшеницы

Локус	Аллель	Праймеры	Последовательность праймера (5' → 3')	Длина фрагмента, пн	Литературный источник
<i>VRN-A1</i>	<i>Vrn-A1a</i> <i>Vrn-A1b</i> <i>vrn-A1</i>	VRN1AF VRN1R	GAAAGGAAAAATTCTGCTCG TGCACCTTCCC(C/G)CGCCCCAT	650 + 750 ~480 ~500	[10]
<i>VRN-B1</i>	<i>Vrn-B1a</i> <i>Vrn-B1b</i> <i>Vrn-B1c</i> <i>vrn-B1</i>	Ex1/B/F3 Intr1/B/F Intr1/B/R3 Intr1/B/R4	GAAGCGGATCGAGAACAAGA CAAGTGGACGGTTAGGACA CTCATGCCAAAAATTGAAGATGA CAAATGAAAAGGAATGAGAGCA	709 + 1235 673 + 1199 849 1149	[16]
<i>PPD-D1</i>	<i>Ppd-D1a</i> <i>Ppd-D1b</i>	Ppd1_F Ppd1_R1 Ppd1_R2	ACGCCTCCCCTACTACTG GTTGGTTCAAACAGAGAGC CACTGGTGGTAGCTGAGATT	288 414	[34]

вом свете при помощи системы для документации гелей Doc-Print II (Vilber Lourmat, Франция).

Изучение продолжительности фаз развития

Изучение продолжительности отдельных фаз развития у линий мягкой пшеницы с доминантными аллелями локусов *VRN-1* проводилось при весеннем посеве 2017 и 2018 гг. на экспериментальном поле ИЦиГ СО РАН при естественном длинном дне (55°2 N, 82°56 E, длина дня за период май–август 17 ч) и в теплице ЦКП “ЛИВР” ИЦиГ СО РАН в 2019 г. в весеннюю вегетацию.

Изучалась продолжительность следующих фаз развития: “всходы–кущение”, “кущение–первый узел” (или “всходы–первый узел”), “первый узел–колошение” и “всходы–колошение”. Кущение отмечалось в день, когда от главного побега начинал отходить второй побег. Фаза “первый узел” отмечалась, когда первый узел появлялся на главном побеге на высоте 1 см над поверхностью почвы. Выход в трубку отмечался в день, когда первый узел поднимался на высоту около 4 см и на поверхности почвы начинал формироваться второй узел. Колошение отмечалось, когда колос полностью выходил из флагового листа [45]. Даты наступления фаз развития отмечались у каждого растения индивидуально и высчитывалось среднее значение. Было изучено по 25–35 растений каждой линии.

При изучении расщепления гибридов F₂, полученных от скрещивания линий Без1*Vrn-A1a* *Vrn-B1a* и Без1*Vrn-A1a* *Vrn-B1c* с тестерными изогенными линиями по сорту Triple Dirk и изогенными линиями по сорту Без1, определяли число яровых и озимых растений. К озимым относили

растения, которые не выколосились или не вышли в трубку после 100 дней от всходов.

Изучение динамики развития конуса нарастания

Конус нарастания растений исследовали под стереомикроскопом Альтами ПСО745 и фотографировали камерой Альтами FireWire 1340R7 1/2CCD (Россия). Для анализа конус нарастания освобождали от покрывающих его листьев при помощи препаровальной иглы, предварительно срезав верхнюю часть стебля примерно на 1–2 см выше узла и рассматривали под микроскопом при увеличении 10×. Наблюдения за динамикой развития конуса нарастания проводились с 9 по 26 июня 2017 г. с интервалом в 3–4 дня, начиная с фазы “кущение” и заканчивая появлением фазы “выход в трубку”.

Изучение признаков продуктивности

Продуктивность растений изучена в 2018 г. при выращивании на экспериментальном поле ИЦиГ СО РАН. Для проведения структурного анализа отбирали по 25 лучших растений из каждой линии. Проводили изучение элементов продуктивности главного колоса (длина колоса, число колосков, число и масса зерен) и растения (число колосьев, число и масса зерен).

Статистическая обработка результатов

Статистическая обработка полученных данных проведена с помощью Microsoft Excel 2013. Для оценки статистической значимости различий между средними значениями использовался критерий Стьюдента (*t*-критерий).

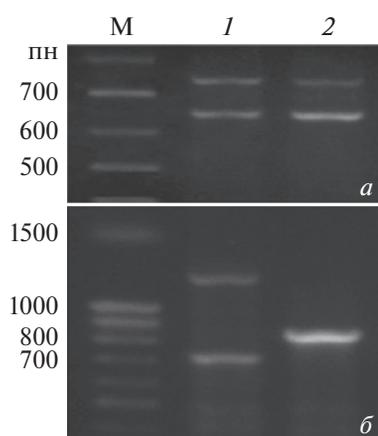


Рис. 1. Идентификация аллелей локусов *VRN-1* у линий по сорту Без1 с использованием аллель-специфичных праймеров: *a* – *VRN-A1*, *б* – *VRN-B1*. М – 100 bp Ladder. 1 – Без1 *Vrn-A1a Vrn-B1a*; 2 – Без1 *Vrn-A1a Vrn-B1c*.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Определение аллелей локусов *VRN-A1*, *VRN-B1* и *PPD-D1* у линий по сорту Без1 с использованием ПЦР-анализа

Определение генотипа линий сорта Без1 проводили с помощью ПЦР-анализа с аллель-специфичными праймерами, представленными в табл. 2. С использованием аллель-специфичных праймеров *VRN1AF* и *VRN1R* у изученных линий амплифицировались два фрагмента размером 650 и 750 пн, характерных для доминантного аллеля *Vrn-A1a* (рис. 1,а). С использованием мультиплексной ПЦР с четырьмя праймерами *Ex1/B/F3*, *Intr1/B/F*, *Intr1/B/R3* и *Intr1/B/R4* у одной линии ПЦР-продукт был представлен двумя фрагментами размером 709 и 1235 пн, характерными для доминантного аллеля *Vrn-B1a*. У другой линии амплифицировался фрагмент размером 849 пн, что указывает на присутствие доминантного аллеля *Vrn-B1c* (рис. 1,б). Таким образом, генотип линии 1 (Л1) – *Vrn-A1a Vrn-B1a*, а линии 2 (Л2) – *Vrn-A1a Vrn-B1c*.

Известно, что на продолжительность фаз развития у мягкой пшеницы помимо генов *VRN* существенное влияние также оказывают и гены

PPD, контролирующие чувствительность к фотопериоду. Поэтому нашей задачей было идентифицировать аллели генов *PPD* у изогенных линий и линий с комбинацией аллелей локусов *VRN* по сорту Без1.

С использованием мультиплексной ПЦР с тремя праймерами *Ppd-D1_F*, *Ppd-D1_R1* и *Ppd-D1_R2* у сорта Без1 и созданных на его основе линий с различными доминантными аллелями *VRN* амплифицировался фрагмент размером 288 пн, что указывает на присутствие нечувствительного к длине дня аллеля *Ppd-D1a* (рис. 2).

Определение генотипа по генам *VRN* у яровых линий сорта Без1 на основе генетического расщепления гибридов F_2 с тестерными изогенными линиями

Для подтверждения результатов молекулярного анализа дополнительно был проведен гибридологический анализ с тестерными линиями А.Т. Pugsley, изогенными линиями по сорту Без1 (*i:Bez1 Vrn-A1a*, *i:Bez1 Vrn-B1a*, *i:Bez1 Vrn-B1c* и *i:Bez1 VRN-D4*) и озимым сортом Филатовка. У гибридов F_2 , полученных от скрещивания линий Без1 *Vrn-A1a Vrn-B1a* и Без1 *Vrn-A1a Vrn-B1c* с тестерными линиями TD D (*VRN-A1*) и TD B (*VRN-B1*) и изогенными линиями *i:Bez1 Vrn-A1a*, *i:Bez1 Vrn-B1a* и *i:Bez1 Vrn-B1c*, расщепление отсутствовало и все растения были яровыми. При скрещивании этих линий с тестерами TD E (*VRN-D1*) и TD F (*VRN-D4*) и изогенной линией *i:Bez1 VRN-D4* наблюдалось расщепление на яровые: озимые, близкое к 63 : 1. При скрещивании с озимым сортом Филатовка, который несет все рецессивные гены *vrn*, расщепление соответствовало дигенному – 15 : 1 (табл. 3).

Таким образом, полученные результаты показали присутствие двух доминантных генов *VRN-A1* и *VRN-B1* и рецессивных генов *vrn-D1* и *vrn-D4* в генотипе изученных линий. Тем самым установлено соответствие результатов молекулярного и генетического анализа.

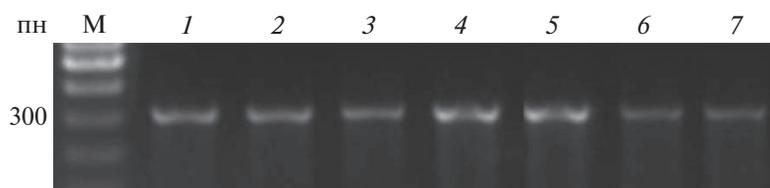


Рис. 2. Идентификация аллелей локуса *PPD-D1* у линий по сорту Без1 с использованием праймеров *Ppd-D1_F*, *Ppd-D1_R1* и *Ppd-D1_R2*. М – 100 bp Ladder. 1 – сорт Без1; 2 – *i:Bez1 Vrn-A1a*; 3 – *i:Bez1 Vrn-B1a*; 4 – *i:Bez1 Vrn-B1c*; 5 – *i:Bez1 VRN-D4*; 6 – Без1 *Vrn-A1a Vrn-B1a*; 7 – Без1 *Vrn-A1a Vrn-B1c*.

Таблица 3. Определение генотипа по генам *VRN* у яровых линий сорта Без1 на основе генетического расщепления гибридов F₂ с тестерными изогенными линиями

Комбинация F ₂	Число растений			Расщепление	χ^2	P
	всего	озимых	яровых			
Л1 × TD D (<i>Vrn-A1a</i>)	156	0	156			
Л1 × TD B (<i>VRN-B1</i>)	161	0	161			
Л1 × TD E (<i>VRN-D1</i>)	250	1	249	63 : 1	2.19	0.25–0.10
Л1 × TD F (<i>VRN-D4</i>)	202	5	197	63 : 1	1.09	0.50–0.25
Л1 × i:Без1 <i>Vrn-A1a</i>	167	0	167			
Л1 × i:Без1 <i>Vrn-B1a</i>	179	0	179			
Л1 × i:Без1 <i>Vrn-B1c</i>	140	0	140			
Л1 × i:Без1 <i>VRN-D4</i>	186	5	181	63 : 1	1.53	0.25–0.10
Л2 × TD D (<i>VRN-A1</i>)	159	0	159			
Л2 × TD B (<i>VRN-B1</i>)	150	0	150			
Л2 × TD E (<i>VRN-D1</i>)	195	3	192	63 : 1	0.00	0.90
Л2 × TD F (<i>VRN-D4</i>)	220	1	219	63 : 1	1.76	0.25–0.10
Л2 × i:Без1 <i>Vrn-A1a</i>	182	0	182			
Л2 × i:Без1 <i>Vrn-B1a</i>	159	0	159			
Л2 × i:Без1 <i>Vrn-B1c</i>	129	0	129			
Л2 × i:Без1 <i>VRN-D4</i>	196	2	194	63 : 1	0.37	0.75–0.50
Л1 × Филатовка	204	11	193	15 : 1	0.26	0.75–0.50
Л2 × Филатовка	197	19	184	15 : 1	0.04	0.90–0.75

Примечание. Л1 – линия Без1 *Vrn-A1a Vrn-B1a*, Л2 – линия Без1 *Vrn-A1a Vrn-B1c*.

Определение влияния различных доминантных аллелей локусов VRN-1 и их комбинаций на продолжительность отдельных фаз развития в условиях лесостепной зоны Новосибирской области

Изучена продолжительность отдельных фаз развития у линий мягкой пшеницы сорта Без1 с двумя доминантными аллелями локусов *VRN-1*: Без1 *Vrn-A1a Vrn-B1a* и Без1 *Vrn-A1a Vrn-B1c*. В качестве контролей использовали изогенные линии сорта Без1 с доминантными аллелями *Vrn-A1a*, *Vrn-B1a*, *Vrn-B1c* и *VRN-D4*. Результаты представлены в табл. 4. В условиях естественного длинного дня действие генов *PPD* проявляется слабо, что позволяет более четко определить эффекты генов *VRN*.

Прежде всего установлено, что линии с комбинацией двух аллелей (Без1 *Vrn-A1a Vrn-B1a* и Без1 *Vrn-A1a Vrn-B1c*) выколашивались раньше других линий (за 40–41 день). По сравнению с изогенной линией Без1 *Vrn-A1a*, у которой продолжительность периода “всходы–колошение” составила 42–43 дня, различия составляли 2 дня ($p < 0.001$). Также выявлены достоверные различия между линиями с двумя доминантными аллелями и изогенными линиями по гену *VRN-B1*: колошение у линии Без1 *Vrn-A1a Vrn-B1a* отмечено примерно на 10 дней раньше по сравнению с i:Без1 *Vrn-B1a* (про-

должительность периода “всходы–колошение” составила 49–52 дня), а у линии Без1 *Vrn-A1a Vrn-B1c* ускорение колошения наблюдалось примерно на 8 дней по сравнению с i:Без1 *Vrn-B1c* (45–51 день) ($p < 0.001$). Аналогичная тенденция характерна и при выращивании этих линий в условиях теплицы ЦКП “ЛИВР” ИЦиГ СО РАН. В весеннюю вегетацию 2019 г. растения линий с двумя доминантными аллелями выколашивались за 43 дня и различия относительно линий с аллелями *Vrn-A1a*, *Vrn-B1a* и *Vrn-B1c* составили 3, 10 и 13 дней соответственно.

Изогенные линии с доминантными аллелями локуса *VRN-B1* выколашивались позже по сравнению с изогенной линией с аллелем *Vrn-A1a*. При сравнении изогенных линий по локусу *VRN-B1* между собой установлено, что изогенная линия i:Без1 *Vrn-B1c* выколашивалась раньше линии i:Без1 *Vrn-B1a* примерно на 3 дня ($p < 0.001$). У изогенной линии i:Без1 *VRN-D4* продолжительность составляла 48 дней, и она занимала промежуточное положение между i:Без1 *Vrn-A1a* и i:Без1 *Vrn-B1a* и не отличалась от i:Без1 *Vrn-B1c*.

Длительность периода “всходы–кушение” (I–III этапы органогенеза) у всех изученных линий по сорту Без1 была примерно одинаковой и составляла 11–12 дней. При этом линия Без1 *Vrn-A1a Vrn-B1a* имела наименьшую продолжитель-

Таблица 4. Продолжительность фаз развития у линий мягкой пшеницы по сорту Без1 с доминантными аллелями локусов *Vrn* (поле, 2017 и 2018 гг.)

Линия	Год	Всходы—кущение	Кушение—первый узел	Всходы—первый узел	Первый узел—колошение	Всходы—колошение
i:Без1 <i>Vrn-A1a</i>	2017	11.82 ± 0.23	12.85 ± 0.41	24.68 ± 0.44	17.12 ± 0.32	41.80 ± 0.40
	2018			22.15 ± 0.15	20.90 ± 0.35	43.05 ± 0.36
i:Без1 <i>Vrn-B1a</i>	2017	11.82 ± 0.56	20.32 ± 0.32***1	32.20 ± 0.24***1	16.36 ± 0.43	48.60 ± 0.56***1
	2018			31.26 ± 0.39***1	20.52 ± 0.33	51.78 ± 0.55***1
i:Без1 <i>Vrn-B1c</i>	2017	10.97 ± 0.25*1 *2	17.80 ± 0.37***1 ***2	28.77 ± 0.37***1 ***2	16.07 ± 0.31*1	44.80 ± 0.36***1 ***2
	2018			28.81 ± 0.42***1 ***2	22.40 ± 0.53*1 **2	51.26 ± 0.50***1
i:Без1 <i>Vrn-D4</i>	2017	12.15 ± 0.28***3	15.85 ± 0.36***1 ***2 ***3	28.00 ± 0.30***1 ***2	17.00 ± 0.37	45.00 ± 0.25***1 ***2
	2018			29.21 ± 0.42***1	21.04 ± 0.53	50.25 ± 0.74***1
Без1 <i>Vrn-A1a Vrn-B1a</i>	2017	10.59 ± 0.17***1 **2	11.03 ± 0.19***1 ***2	21.62 ± 0.20***1 ***2	18.27 ± 0.23***1 ***2	39.90 ± 0.18***1 ***2
	2018			22.25 ± 0.18***2	19.18 ± 0.31***1 **2	41.43 ± 0.39***1 ***2
Без1 <i>Vrn-A1a Vrn-B1c</i>	2017	11.97 ± 0.32***3	10.18 ± 0.26***1 ***3	22.15 ± 0.13***1 ***3	17.67 ± 0.22***3	39.80 ± 0.24***1 ***3
	2018			20.47 ± 0.25***1 ***3	20.74 ± 0.32***3	41.21 ± 0.28***1 ***3

Примечание. Достоверные отличия: ¹ — от i:Без1*Vrn-A1a*, ² — от i:Без1*Vrn-B1a*, ³ — от i:Без1*Vrn-B1c*. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

ность данного периода среди изученных линий по сорту Без1.

У линий с двумя доминантными аллелями период “кущение—первый узел” составил 10–11 дней и был короче в среднем на 2–3 дня по сравнению с изогенной линией *i:Без1 Vrn-A1a*, у которой данный период составил 13 дней ($p < 0.001$). У линии *Без1 Vrn-A1a Vrn-B1a* продолжительность данной фазы составила 11 дней и уменьшилась на 9 дней ($p < 0.001$) по сравнению с изогенной линией *i:Без1 Vrn-B1a*, у которой продолжительность составила 20 дней; а у линии *Без1 Vrn-A1a Vrn-B1c* по сравнению с *i:Без1 Vrn-B1c*, у которой данный период длился 18 дней, — уменьшилась на 8 дней соответственно ($p < 0.001$). У изогенной линии *i:Без1 VRN-D4* продолжительность данной фазы составила 16 дней, и по продолжительности данного периода она занимает промежуточное положение между изогенными линиями с доминантным аллелем *Vrn-A1a* и доминантными аллелями локуса *VRN-B1*. В целом период от всходов до первого узла у линий с двумя доминантными аллелями в среднем по данным за два года составил 21–22 дня и был короче в среднем на 1–2 дня по сравнению с изогенной линией *i:Без1 Vrn-A1a*. По сравнению с изогенной линией *i:Без1 Vrn-B1a*, у которой продолжительность данной фазы составляла 32 дня, у линии *Без1 Vrn-A1a Vrn-B1a* продолжительность уменьшилась на 10 дней ($p < 0.001$), а у линии *Без1 Vrn-A1a Vrn-B1c* по сравнению с *i:Без1 Vrn-B1c*, у которой данный период длился 29 дней, — на 8 дней соответственно ($p < 0.001$).

Продолжительность периода “первый узел—колошение” (IV–VII этапы органогенеза) у линий с двумя доминантными аллелями увеличилась незначительно относительно изогенных линий с аллелями *Vrn-A1a*, *Vrn-B1a* и *Vrn-B1c* ($p < 0.01–0.001$) (на 1–2 дня). Известно, что у более позднеспелых генотипов немного уменьшаются сроки прохождения дальнейших фаз развития, поэтому продолжительность периода после появления первого узла у них немного сокращается по сравнению с более скороспелыми.

Необходимо отметить, что продолжительность фаз развития варьировала в зависимости от погодных условий года вегетации. Так, в 2018 г. по сравнению с 2017 г. растения были более позднеспелые и увеличилась продолжительность периода “всходы—колошение” в большей степени за счет увеличения периода “первый узел—колошение”.

Таким образом, при изучении в условиях Новосибирской области линий с комбинацией доминантных аллелей локусов *VRN-A1* и *VRN-B1*, полученных на основе сорта Без1, в течение двух лет выявлено достоверное уменьшение продолжительности периодов “всходы—первый узел” (или “кущение—первый узел”) и “всходы—колошение”

по сравнению с исходными изогенными линиями: *i:Без1 Vrn-A1a*, *i:Без1 Vrn-B1a* и *i:Без1 Vrn-B1c*.

Изучение динамики роста и развития конуса нарастания линий мягкой пшеницы по сорту Без1

Для изучения особенностей прохождения фаз развития и этапов органогенеза также применяется подход, который заключается в наблюдении за ростом и развитием конуса нарастания [45].

В данной работе изучены особенности прохождения этапов органогенеза в динамике на основе наблюдений за ростом и развитием конуса нарастания у растений изогенных линий по сорту Без1 с разными доминантными аллелями локусов *VRN*, а также линий с комбинацией доминантных аллелей (*Vrn-A1a Vrn-B1a* и *Vrn-A1a Vrn-B1c*). На рис. 3 представлены в динамике фотографии конуса нарастания. Фаза “кущение” соответствует II–III этапам органогенеза, “первый узел—выход в трубку” — IV–V этапам.

Начало фазы “кущение” у всех линий было отмечено примерно одинаково — 31 мая—1 июня. Первое наблюдение за конусом нарастания проведено 9 июня, что соответствовало фазе “кущение”. Так, у линий с доминантным аллелем *Vrn-A1a* (*i:Без1 Vrn-A1a*, *Без1 Vrn-A1a Vrn-B1a* и *Без1 Vrn-A1a Vrn-B1c*) в период, соответствующий середине фазы “кущение—первый узел”, отмечено увеличение размера конуса нарастания до 1.5 мм и была заметна сегментация конуса нарастания с формированием зачаточных колосков, поскольку именно с этого момента начинают проявляться различия в скорости развития генотипов, различающихся аллельным составом генов *VRN*. У более позднеспелых линий по сорту Без1 сегментация слабо выражена. Появление первого узла у линий с двумя доминантными аллелями наблюдалось 11–12 июня, у линии *i:Без1 Vrn-A1a* — 14 июня, у линий с аллелями *Vrn-B1c* и *VRN-D4* — 18 июня, а у линии *i:Без1 Vrn-B1a* — 22 июня.

При наблюдении 12 июня у наиболее скороспелых линий наблюдали дальнейший рост конуса нарастания и более заметную сегментацию. При этом у линий с двумя доминантными аллелями было заметно увеличение размера конуса нарастания относительно линии с доминантным аллелем *Vrn-A1a*. У более позднеспелых линий: *i:Без1 Vrn-B1c* и *i:Без1 VRN-D4* появилась сегментация конуса нарастания, а у линии *i:Без1 Vrn-B1a* сегментация слабо заметна.

При этом линии с двумя доминантными аллелями на всех последующих этапах органогенеза опережали в своем развитии другие линии по степени дифференциации и размеру конуса нарастания. Период формирования зачаточного колоса у них завершился раньше по сравнению с линиями с доминантными аллелями *Vrn-B1a* и *Vrn-B1c*, а

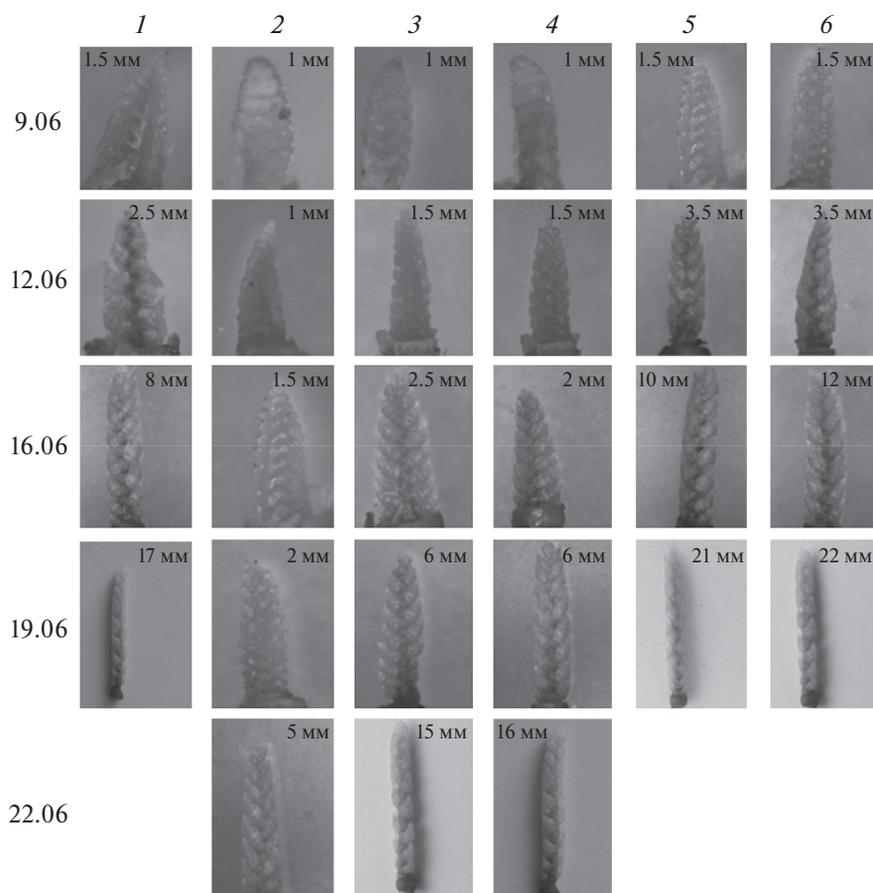


Рис. 3. Динамика развития конусов нарастания линий мягкой пшеницы по сорту Без1 на разных этапах органогенеза. Увеличение 10×. 1 – *i:Bez1Vrn-A1a*; 2 – *i:Bez1Vrn-B1a*; 3 – *i:Bez1Vrn-B1c*; 4 – *i:Bez1VRN-D4*; 5 – *Bez1Vrn-A1a Vrn-B1a*; 6 – *Bez1Vrn-A1a Vrn-B1c*.

также *Vrn-A1a*. Также на этом этапе отмечено различие в развитии между линиями с разными аллелями гена *VRN-B1*, а именно линия *i:Bez1Vrn-B1c* опережала в своем развитии линию *i:Bez1Vrn-B1a*. У линии *i:Bez1Vrn-B1c* наблюдали большее вытягивание и сегментацию конуса нарастания на III и IV этапах органогенеза.

Таким образом, были выявлены различия в динамике по длине и морфологии конуса нарастания между линиями по сорту Без1. Различия начинали проявляться во время фазы “кущение—первый узел”.

Определение влияния различных доминантных аллелей локусов VRN и их комбинаций на продуктивность линий мягкой пшеницы по сорту Без1

Важной задачей селекции является получение высокоурожайных форм. В связи с этим представляет интерес установление влияния различных доминантных аллелей локусов *VRN* и их комбинаций на показатели продуктивности. Поскольку в данной

работе используются линии с разными аллелями *VRN*, находящимися в одной генотипической среде, то это позволит изучить вклад разных аллелей генов *VRN* и их комбинаций на продуктивность.

Далее приведены результаты изучения продуктивности главного колоса и растения в целом линий с комбинацией аллелей локусов *VRN-A1* и *VRN-B1* (*Bez1Vrn-A1a Vrn-B1a* и *Bez1Vrn-A1a Vrn-B1c*), а также изогенных линий с доминантными аллелями *Vrn-A1a*, *Vrn-B1a*, *Vrn-B1c* и *VRN-D4*. Результаты представлены в табл. 5. Сравнительный анализ линий с комбинацией доминантных аллелей показал, что более продуктивной оказалась линия *Bez1Vrn-A1a Vrn-B1c* относительно линии *i:Bez1Vrn-A1a Vrn-B1a*. Достоверное превышение показателей отмечено по длине колоса, массе зерен с колоса и массе зерен с растения ($p < 0.001$). По остальным показателям также отмечено превышение по абсолютным значениям. Кроме того, у линии *Bez1Vrn-A1a Vrn-B1c* показатели продуктивности главного колоса не отличались от значений линии *i:Bez1Vrn-A1a*, а по массе зерна главного колоса

Таблица 5. Продуктивность изогенных линий сорта Без1 и линий с сочетанием доминантных аллелей локусов *VRN* (поле, 2018 г.)

Линия	Продуктивность главного колоса						Продуктивность растения			
	длина колоса, см	число колосков, шт.	число зерен, шт.	масса зерен, г	число колосьев, шт.	число зерен, шт.	масса зерен, г	число колосьев, шт.	число зерен, шт.	масса зерен, г
i:Без1 <i>VRN-A1a</i>	9.36 ± 0.09	18.68 ± 0.22	39.36 ± 1.13	1.56 ± 0.06	6.32 ± 0.34	191.96 ± 10.45	7.00 ± 0.45			
i:Без1 <i>VRN-B1a</i>	9.78 ± 0.08* ¹	19.80 ± 0.23** ¹	44.00 ± 1.31* ¹	2.19 ± 0.07*** ¹	6.52 ± 0.40	227.00 ± 15.42	10.39 ± 0.77*** ¹			
i:Без1 <i>VRN-B1c</i>	10.05 ± 0.32*** ¹ * ²	21.68 ± 1.49*** ¹ *** ²	48.12 ± 2.50** ¹	2.28 ± 0.13*** ¹	7.72 ± 0.31*** ¹ * ²	274.16 ± 10.82*** ¹ * ²	11.69 ± 0.51*** ¹			
i:Без1 <i>VRN-D4</i>	8.70 ± 0.09*** ¹ *** ² *** ³	19.09 ± 0.34*** ³	45.08 ± 1.43** ¹	1.88 ± 0.07*** ¹ ** ² * ³	6.84 ± 0.39	244.00 ± 14.34** ¹	9.29 ± 0.62*** ¹ *** ³			
Без1 <i>VRN-A1a</i> <i>VRN-B1a</i>	8.88 ± 0.09*** ¹ *** ²	17.80 ± 0.20** ¹ *** ²	38.60 ± 1.58* ²	1.50 ± 0.08*** ²	7.68 ± 0.43* ¹	229.12 ± 15.66	8.31 ± 0.69* ²			
Без1 <i>VRN-A1a</i> <i>VRN-B1c</i>	9.34 ± 0.09*** ³ *** ⁴	18.08 ± 0.31*** ³	39.88 ± 1.36* ³	1.99 ± 0.07*** ¹ *** ⁴	8.00 ± 0.49** ¹	249.28 ± 16.62** ¹	12.34 ± 0.77*** ¹ *** ⁴			

Примечание. Достоверные отличия: ¹ – от i:Без1*VRN-A1a*, ² – от i:Без1*VRN-B1a*, ³ – от i:Без1*VRN-B1c*, ⁴ – между линиями Без1*VRN-A1a* *VRN-B1a* и Без1*VRN-A1a* *VRN-B1c*. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

отмечено превышение (на 0.43 г $p < 0.001$). Показатели продуктивности растения (число колосьев, число и масса зерен) у данной линии превышали контроль *i:Bez1Vrn-A1a* ($p < 0.01-0.001$).

Среди изогенных линий по продуктивности растения выделялась одна линия — *i:Bez1Vrn-B1c*. У данной линии были максимальными число колосков в колосе (21.68 шт.), число колосьев с растения (7.72 шт.), число зерен с растения (274.16 шт.) и масса зерен с растения (11.69 г). Наименее продуктивной из четырех линий оказалась линия *i:Bez1Vrn-A1a*. Наибольшую массу зерен с колоса имели линии *i:Bez1Vrn-B1a* и *i:Bez1Vrn-B1c* (2.19 и 2.28 г).

ОБСУЖДЕНИЕ

С использованием молекулярного и генетического анализа определен генотип двух линий сорта *Bez1*. Полученные результаты показали присутствие двух доминантных генов *VRN-A1* и *VRN-B1*. Одна из линий несет аллели *Vrn-A1a Vrn-B1a*, а вторая — *Vrn-A1a Vrn-B1c*. Кроме того, обе эти линии, а также изогенные линии сорта *Bez1* несут нечувствительный к длине дня аллель *Ppd-D1a*.

Известно, что скороспелость современных коммерческих сортов мягкой пшеницы, возделываемых в странах умеренного климата, в том числе и в России, обеспечивается за счет присутствия доминантного аллеля *Vrn-A1a*, который обладает наибольшим эффектом по ускорению колошения [10, 15, 22–24, 26]. При этом показано, что сочетание двух аллелей — *Vrn-A1a* с *Vrn-B1a* или *Vrn-B1c* может уменьшать продолжительность вегетационного периода сортов мягкой пшеницы относительно сортов, несущих только один аллель *Vrn-A1a* [22–24]. Именно поэтому для климатических условий большей части России и Западной Сибири наибольшее распространение получили сорта, яровой тип развития которых определяется комбинацией доминантных аллелей — *Vrn-A1a* и *Vrn-B1c* или *Vrn-B1a* [21, 23–25].

Поскольку время колошения сортов с одинаковым генотипом по генам *VRN* может отличаться в зависимости от генетического фона, в настоящей работе изучены эффекты комбинации аллелей на одинаковом генетическом фоне. Полученные в нашей работе результаты согласуются с полученными ранее результатами о большей скороспелости генотипов с двумя доминантными аллелями *Vrn-A1a Vrn-B1a* и *Vrn-A1a Vrn-B1c*.

Экспериментально установлено, что полученные линии с двумя доминантными аллелями локуса *VRN-1* в условиях Новосибирской области оказались более скороспелыми по сравнению с исходными изогенными линиями: *i:Bez1Vrn-A1a*, *i:Bez1Vrn-B1a* и *i:Bez1Vrn-B1c*. Различия по продолжительности периода “всходы—колошение” в большей степени были связаны с уменьшением

периода до формирования первого узла, в частности периода “кушение—первый узел” (II–IV этапы органогенеза), который является ключевым этапом, определяющим в итоге продолжительность вегетационного периода мягкой пшеницы. Данный факт подтверждается результатами других авторов [40, 46, 47].

Изучение особенностей биологии развития особенно важно для возделывания сортов, соответствующих климатическим условиям конкретной зоны. Так, если III–IV этапы органогенеза проходят слишком быстро или в неблагоприятных условиях (недостаток влаги, высокие температуры), то уменьшается число колосков и длина колоса, что в конечном счете оказывает влияние на конечную продуктивность растения. И, наоборот, при благоприятных условиях закладываются более мощные колосья, что увеличивает продуктивность растений [45]. Поэтому важно точно определить сроки прохождения III–IV этапов органогенеза и выбрать генотипы, которые оптимально подходят для каждого климатического региона произрастания с учетом сроков посева и уборки.

Установлено, что продолжительность вегетационного периода, а также время наступления и длительность отдельных фаз развития, определяемая в большей степени генами *VRN*, имеет тесную связь с устойчивостью к биотическим и абиотическим факторам, а также продуктивностью [1, 37, 45, 48, 49]. На этом основан выбор подходящих сортов пшеницы, несущих определенные аллели генов *VRN* (или их комбинации) для возделывания в определенной природно-климатической зоне. Так, в условиях умеренного климата сорта, несущие два доминантных аллеля — *VRN-A1* и *VRN-B1* имеют преимущество и являются более продуктивными, чем сорта с одним геном *VRN* [7, 42], что позволяет им избегать повреждения заморозками поздней весной и ранней осенью.

В настоящем исследовании среди изогенных линий по сорту *Bez1* наиболее продуктивной оказалась линия *i:Bez1Vrn-B1c*. Изучение продуктивности линий сорта *Bez1* с комбинацией доминантных аллелей показало, что более продуктивной оказалась линия, несущая *Vrn-A1a* в сочетании с *Vrn-B1c*. Полученные данные подтверждают, что для условий Западной Сибири наиболее подходят скороспелые и среднеспелые сорта яровой мягкой пшеницы, которые могут реализовать свой потенциал в данных условиях. Скороспелые сорта быстрее проходят II–IV этапы органогенеза (генотип *Vrn-A1a Vrn-B1c*). Для среднеспелого типа (генотип *Vrn-B1c*) характерны сравнительно продолжительный период I–III этапов органогенеза и средняя продолжительность IV–V этапов.

Таким образом, в данной работе получены новые данные, касающиеся влияния разных доми-

нантных аллелей локусов *VRN* и комбинаций двух доминантных аллелей локуса *VRN-1* на одном генетическом фоне (озимого сорта Без1) на продолжительность отдельных фаз развития и продуктивность в условиях лесостепной зоны Новосибирской области.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 18-34-00146 мол_а и бюджетного проекта 0324-2019-0039.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объекта животных.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием в качестве объекта людей.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Snape J.W., Butterworth K., Whitechurch E., Worland A.J.* Waiting for fine times: genetics of flowering time in wheat // *Euphytica*. 2001. V. 119. P. 185–190. <https://doi.org/10.1023/A:1017594422176>
2. *Kamran A., Iqbal M., Spaner D.* Flowering time in wheat (*Triticum aestivum* L.): a key factor for global adaptability // *Euphytica*. 2014. V. 197. P. 1–26. <https://doi.org/10.1007/s10681-014-1075-7>
3. *Yan L., Loukoianov A., Tranquilli G. et al.* Positional cloning of wheat vernalization gene *VRN1* // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2003. V. 100. P. 6263–6268. <https://doi.org/10.1073/pnas.0937399100>
4. *Trevaskis B., Hemming M.N., Peacock W.J., Dennis E.S.* *HvVRN2* responds to day length, whereas *HvVRN1* is regulated by vernalization and developmental status // *Plant Physiol*. 2006. V. 140. P. 1397–1405. <https://doi.org/10.1104/pp.105.073486>
5. *Yan L., Fu D., Li C. et al.* The wheat and barley vernalization gene *VRN3* is an orthologue of *FT* // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2006. V. 103. P. 19581–19586. <https://doi.org/10.1073/pnas.0607142103>
6. *Yoshida T., Nishida H., Zhu J. et al.* *Vrn-D4* is a vernalization gene located on the centromeric region of chromosome 5D in hexaploid wheat // *Theor. Appl. Genet*. 2010. V. 120. P. 543–552. <https://doi.org/10.1007/s00122-009-1174-3>
7. *Stelmakh A.F.* Genetic effects of *Vrn* genes on heading date and agronomic traits in bread wheat // *Euphytica*. 1993. V. 65. P. 53–60.
8. *Loukoianov A., Yan L., Blechl A. et al.* Regulation of *VRN-1* vernalization genes in normal and transgenic polyploid wheat // *Plant Physiol*. 2005. V. 138. P. 2364–2373. <https://doi.org/10.1104/pp.105.064287>
9. *Shi C., Zhao L., Zhang X. et al.* Gene regulatory network and abundant genetic variation play critical roles in heading stage of polyploidy wheat // *BMC Plant Biol*. 2019. V. 19(1):6. <https://doi.org/10.1186/s12870-018-1591-z>
10. *Yan L., Helguera M., Kato K. et al.* Allelic variation at the *VRN-1* promoter region in polyploid wheat // *Theor. Appl. Genet*. 2004. V. 109. P. 1677–1686. <https://doi.org/10.1007/s00122-004-1796-4>
11. *Dubcovsky J., Loukoianov A., Fu D. et al.* Effect of photoperiod on the regulation of wheat vernalization genes *VRN1* and *VRN2* // *Plant Mol. Biol*. 2006. V. 60. № 4. P. 469–480. <https://doi.org/10.1007/s11103-005-4814-2>
12. *Golovnina K.A., Kondratenko E.Y., Blinov A.G., Goncharov N.P.* Molecular characterization of vernalization loci *VRN1* in wild and cultivated wheats // *BMC Plant Biol*. 2010. V. 10. P. 168–182. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-10-168>
13. *Muterko A., Kalendar R., Salina E.* Novel alleles of the *VERNALIZATION1* genes in wheat are associated with modulation of DNA curvature and flexibility in the promoter region // *BMC Plant Biol*. 2016. V. 16. P. 65–81. <https://doi.org/10.1186/s12870-015-0691-2>
14. *Fu D., Szucs P., Yan L. et al.* Large deletions within the first intron in *VRN-1* are associated with spring growth habit in barley and wheat // *Mol. Genet. Genomics*. 2005. V. 273. P. 54–65. <https://doi.org/10.1007/s00438-004-1095-4>
15. *Santra D.K., Santra M., Allan R.E. et al.* Genetic and molecular characterization of vernalization genes *Vrn-A1*, *Vrn-B1* and *Vrn-D1* in spring wheat germplasm from the Pacific Northwest Region of the USA // *Plant Breed*. 2009. V. 128. P. 576–584. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2009.01681.x>
16. *Milec Z., Tomková L., Sumíková T., Pánková K.* A new multiplex PCR test for the determination of *Vrn-B1* alleles in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) // *Mol. Breed*. 2012. V. 30. P. 317–323. <https://doi.org/10.1007/s11032-011-9621-7>
17. *Shcherban A.B., Efremova T.T., Salina E.A.* Identification of a new *Vrn-B1* allele using two near-isogenic wheat lines with difference in heading time // *Mol. Breed*. 2012. V. 29. P. 675–685. <https://doi.org/10.1007/s11032-011-9581-y>
18. *Zhang J., Wang Y., Wu S. et al.* A single nucleotide polymorphism at the *Vrn-D1* promoter region in common wheat is associated with vernalization response // *Theor. Appl. Genet*. 2012. V. 125. P. 1697–1704. <https://doi.org/10.1007/s00122-012-1946-z>
19. *Muterko A., Balashova I., Cockram J. et al.* The new wheat vernalization response allele *Vrn-D1s* is caused by DNA transposon insertion in the first intron // *Plant Mol. Biol. Report*. 2015. V. 33. P. 294–303. <https://doi.org/10.1007/s11105-014-0750-0>
20. *Nowak M., Kowalczyk K.* Allelic variation at the *Vrn-1* locus of Polish cultivars of common wheat (*Triticum aestivum* L.) // *Acta Biologica Cracoviensia. Series Botanica*. 2010. V. 52. № 2. P. 86–91. <https://doi.org/10.2478/v10182-010-0028-2>
21. *Shcherban A.B., Emtseva M.V., Efremova T.T.* Molecular genetical characterization of vernalization genes *Vrn-A1*, *Vrn-B1* and *Vrn-D1* in spring wheat germplasm from Russia and adjacent regions // *Cereal Res. Commun.* 2012. V. 40. № 3. P. 425–435. <https://doi.org/10.1556/CRC.40.2012.3.4>
22. *Shcherban A.B., Börner A., Salina E.A.* Effect of *VRN-1* and *PPD-1* genes on heading time in European bread

- wheat cultivars // *Plant Breed.* 2014. V. 134. P. 49–55. <https://doi.org/10.1111/pbr.12223>
23. Ефремова Т.Т., Чуманова Е.В., Трубочеева Н.В. и др. Распространенность аллелей локуса *VRN1* среди сортов яровой мягкой пшеницы, возделываемых в Западной Сибири // *Генетика.* 2016. Т. 52. № 2. С. 170–178. <https://doi.org/10.7868/S0016675816010045>
 24. Лихенко И.Е., Стасюк А.И., Щербань А.Б. и др. Изучение аллельного состава генов *Vrn-1* и *Ppd-1* у раннеспелых и среднеранних сортов яровой мягкой пшеницы Сибири // *Вавиловский журнал генетики и селекции.* 2014. V. 18. № 4/1. P. 691–703.
 25. Янковская А.А., Фисенко А.В., Драгович А.Ю. Генетическое разнообразие сортов яровой мягкой пшеницы европейской части России по генам *VRN* и *PPD*, определяющим сроки колошения // *Генетика.* 2018. Т. 54. № 13. Приложение. С. S32–S36. <https://doi.org/10.1134/S0016675818130209>
 26. Iqbal M., Navabi A., Yang R.C. et al. Molecular characterization of vernalization response genes in Canadian spring wheat // *Genome.* 2007. V. 50. P. 511–516. <https://doi.org/10.1139/G07-028>
 27. Zhang X.K., Xiao Y.G., Zhang Y. et al. 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 // *Crop Sci.* 2008. V. 48. P. 458–470. <https://doi.org/10.2135/cropsci2007.06.0355>
 28. Iqbal M., Shahzad A., Ahmed I. Allelic variation at the *Vrn-A1*, *Vrn-B1*, *Vrn-D1*, *Vrn-B3* and *Ppd-D1a* loci of Pakistani spring wheat cultivars // *Electron. J. Biotechnol.* 2011. V. 14. № 1. P. 1–8. <https://doi.org/10.2225/vol14-issue1-fulltext-6>
 29. Потюкина К.К., Кошкин В.А., Алексеева Е.А. и др. Комбинация аллелей генов *Ppd* и *Vrn* определяет сроки колошения у сортов мягкой пшеницы // *Вавиловский журнал генетики и селекции.* 2012. Т. 16. № 1. С. 77–86.
 30. Milec Z., Sumíková T., Tomková L., Pánková K. Distribution of different *Vrn-B1* alleles in hexaploid spring wheat germplasm // *Euphytica.* 2013. V. 192. P. 371–378. <https://doi.org/10.1007/s10681-013-0863-9>
 31. Law C.N., Sutka J., Worland A.J. A genetic study of day-length response in wheat // *Heredity.* 1978. V. 41. № 2. P. 185–191.
 32. Worland A.J., Börner A., Korzun V. et al. The influence of photoperiod genes on the adaptability of European winter wheats // *Euphytica.* 1998. V. 100. P. 385–394.
 33. Khlestkina E.K., Giura A., Roder M.S., Börner A. A new gene controlling the flowering response to photoperiod in wheat // *Euphytica.* 2009. V. 165. P. 579–585. <https://doi.org/10.1007/s10681-008-9783-5>
 34. Beales J., Turner A., Griffiths S. et al. A pseudo-response regulator is misexpressed in the photoperiod insensitive *Ppd-D1a* mutant of wheat (*Triticum aestivum* L.) // *Theor. Appl. Genet.* 2007. V. 115. № 5. P. 721–733. <https://doi.org/10.1007/s00122-007-0603-4>
 35. Nishida H., Yoshida T., Kawakami K. et al. Structural variation in the 5' upstream region of photoperiod-insensitive alleles *Ppd-A1a* and *Ppd-B1a* identified in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.), and their effect on heading time // *Mol. Breed.* 2013. V. 31. P. 27–37. <https://doi.org/10.1007/s11032-012-9765-0>
 36. Scarth R., Law C.N. The control of the day length response in wheat by the group 2 chromosomes // *Z. Pflanzenzücht.* 1984. Bd. 93. S. 140–150.
 37. Cockram J., Jones H., Leigh F.J. et al. Control of flowering time in temperate cereals: Genes, domestication, and sustainable productivity // *J. Experim. Bot.* 2007. V. 58. № 6. P. 1231–1244. <https://doi.org/10.1093/jxb/erm042>
 38. Koval S.F., Goncharov N.P. Multiple allelism at the *VRN1* locus of common wheat // *Acta Agronomica Hungarica.* 1998. V. 46. № 2. P. 113–119.
 39. Efreмова Т.Т., Арбузова В.С., Леонова И.Н., Мажмудова К. Multiple allelism in the *Vrn-B1* locus of common wheat // *Cereal Res. Commun.* 2011. V. 39. № 1. P. 12–21. <https://doi.org/10.1556/CRC.39.2011.1.2>
 40. Емцева М.В., Ефремова Т.Т., Арбузова В.С. Влияние аллелей *Vrn-B1a* и *Vrn-B1c* на продолжительность фаз развития замещенных и изогенных линий мягкой пшеницы // *Генетика.* 2013. Т. 49. № 5. С. 632–640. <https://doi.org/10.7868/S0016675813050056>
 41. Shcherban A.B., Khlestkina E.K., Efreмова Т.Т., Salina E.A. The effect of two differentially expressed wheat *VRN-B1* alleles on the heading time is associated with structural variation in the first intron // *Genetica.* 2013. V. 141. P. 133–141. <https://doi.org/10.1007/s10709-013-9712-y>
 42. Goncharov N.P. Response to vernalization in wheat: its quantitative or qualitative nature // *Cereal Res. Commun.* 2004. V. 32. P. 323–330.
 43. Chumanova E.V., Efreмова Т.Т., Kruchinina Y.V., Pershina L.A. Development and investigation of common wheat lines of winter cultivar Bezostaya 1 with combinations of dominant alleles of *VRN-1* loci // *Vavilov J. Genetics and Breeding.* 2018. V. 22. № 8. P. 951–956. <https://doi.org/10.18699/VJ18.437>
 44. Sharp P.J., Kreis M., Shewry P.R., Gale M.D. Location of β -amylase sequences in wheat and its relatives // *Theor. Appl. Genet.* 1988. V. 75. P. 286–290. <https://doi.org/10.1007/BF00303966>
 45. Куперман Ф.М., Ржанова Е.И., Мурашев В.В. и др. Биология развития культурных растений: учеб. пособие для студентов биол. спец. вузов. М.: Высш. шк., 1982. 343 с.
 46. Воронин А.Н., Стельмах А.Ф. Этапы органогенеза у почти изогенных по локусам *Vrn 1-3* линий мягкой пшеницы // *Науч.-техн. бюлл. ВСГИ.* 1985. Т. 55. № 1. С. 19–23.
 47. Pánková K., Košner J. Chromosome substitutions with dominant loci *Vrn-1* and their effect on developmental stages of wheat // *Czech J. Genet. Plant Breed.* 2004. V. 40. № 2. P. 37–44.
 48. Stelmakh A.F. Geographic distribution of *Vrn* genes in landraces and improved varieties of spring bread wheat // *Euphytica.* 1990. V. 45. P. 113–118.
 49. Worland A.J. The influence of flowering time genes on environmental adaptability in European wheats // *Euphytica.* 1996. V. 89. P. 49–57. <https://doi.org/10.1007/BF00015718>

Effect of Various Dominant *VRN* Alleles and Their Combinations on the Duration of Developmental Phases and Productivity in Common Wheat Lines

E. V. Chumanova^{a,*}, T. T. Efremova^a, and Yu. V. Kruchinina^a

^aThe Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics,
Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, 630090 Russia

*e-mail: chumanova@bionet.nsc.ru

Using allele-specific primers and hybridological analysis, the presence of alleles of the *VRN* and *PPD* loci in wheat lines of cultivar Bezostaya 1 (Bez1) was determined. The duration of individual development phases in lines of cultivar Bez1 carrying different dominant *VRN* genes and their combinations was studied. It was found that in the lines with a combination of two dominant alleles of the *VRN-1* locus: Bez1 *Vrn-A1a Vrn-B1a* and Bez1 *Vrn-A1a Vrn-B1c* revealed a significant decrease in the period of “tillering-first node” and “shoots-heading” compared to the initial isogenic lines: i:Bez1 *Vrn-A1a*, i:Bez1 *Vrn-B1a* and i:Bez1 *Vrn-B1c*. In addition, the presence of two dominant alleles leads to a reduction in the time of passage the stages of organogenesis, as shown in studying the dynamics of the size and morphology of the growth cone in lines of cultivar Bez1. Studying the productivity of Bez1 lines showed that line i:Bez1 *Vrn-B1c* was the most productive, while line Bez1 *Vrn-A1a Vrn-B1c* was more productive than Bez1 *Vrn-A1a Vrn-B1a*.

Keywords: common wheat lines, duration of developmental phases, alleles of the *VRN-A1*, *VRN-B1* and *PPD-D1* loci, PCR analysis, quantitative traits.