

ХРОМОСОМНАЯ ЛОКАЛИЗАЦИЯ ГЕНА *b-Amy-A1* И РАСПРОСТРАНЕНИЕ ЕГО АЛЛЕЛЕЙ В КУЛЬТУРЕ ОЗИМОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ© 2023 г. В. П. Нецветаев^{1, 2, *}, Я. О. Козелец¹, А. П. Ащеулова^{1, 2},
А. В. Петренко¹, О. В. Акиншина¹¹Белгородский федеральный аграрный научный центр Российской академии наук, Белгород, 308001 Россия²Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, 308015 Россия

*e-mail: v.netsvetaev@yandex.ru

Поступила в редакцию 10.01.2023 г.

После доработки 06.02.2023 г.

Принята к публикации 07.02.2023 г.

Проведен анализ хромосомной локализации гена *b-Amy-A1*, контролирующего синтез изоферментов бета-амилазы пшеницы, путем оценки сцепления с маркерным геном *B1* (безостость), расположенным в длинном плече хромосомы 5A. Результаты получены на основе исследования F_2 и $F_{\rightarrow\infty}$ Delta $\times$ Selection 2092. Лocus *b-Amy-A1* показал сцепление с геном *B1* величиной в $6.55 \pm 2.10\%$ рекомбинации. Параллельно идентифицированы аллели локуса *Rht8*, обуславливающего низкорослость растений, и установлено его сцепление с геном *C* (плотноколосость) в $22.59 \pm 6.28\%$ (F_2) и $24.22 \pm 1.18\%$ ($F_{\rightarrow\infty}$) рекомбинации в хромосоме 2D. Сорт Delta несет аллель *Rht8a*, а образец Selection 2092 — аллель *Rht8c*. Исследовали коллекцию сортов озимой мягкой пшеницы, созданных и районированных в России. Отобранные сорта несли идентичные аллели *b-Amy-B1a* и *b-Amy-D1a* локусов хромосом 4B и 4D. В то же время сорта отличались наиболее распространенными аллелями *b-Amy-A1a* и *b-Amy-A1b* хромосомы 5A. Установлено, что в направлении с юга на север европейской части России увеличивается частота аллеля *b-Amy-A1a* с 24.2% (Северный Кавказ) до 75.0% (Московская—Ульяновская области). Соответственно частота альтернативного аллеля *b-Amy-A1b* уменьшалась с 75.8% (Северный Кавказ) до 25.0% (Московская—Ульяновская области). В Ростовской обл. соотношение встречаемости аллеля *b-Amy-A1a* к *b-Amy-A1b* составляло 46.7 : 53.3%. В то же время уже в Центрально-Черноземном регионе проявилось значительное доминирование аллеля *b-Amy-A1a* над *b-Amy-A1b*. Использование коллекции сортов как популяции $F_{\rightarrow\infty}$ продемонстрировало сцепление *b-Amy-A1* с *B1* величиной в $5.56 \pm 1.90\%$ рекомбинации.

Ключевые слова: мягкая пшеница, бета-амилаза, изоферменты, генетический контроль, хромосомная локализация, маркерные гены.

DOI: 10.31857/S001667582307007X, **EDN:** QKKYRQ

Среди сортов озимой мягкой пшеницы наиболее широко распространены зимотипы бета-амилазы А и В [1]. Изоферменты этого фермента контролируются тремя локусами: *b-Amy-A1*, *b-Amy-B1* и *b-Amy-D1*, расположенными соответственно в хромосомах 5AL, 4BL и 4DL [2–5]. Различия между зимотипами бета-амилазы А и В носили моногенный характер [1]. Позднее было показано, что различия в медленно подвижной зоне зимограмм этого фермента обусловлены аллелями гена *b-Amy-A1* [6]. Учитывая эти сведения, одной из целей исследования было установление хромосомного контроля, обуславливающего различия между зимотипами А и В бета-амилазы. Другой целью было выявление закономерностей в распространении аллелей, контролирующих варианты А и В данного фермента, в европейской части России.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для идентификации хромосомы, ответственной за синтез изоферментов бета-амилазы типа А и В, хромосома 5A маркировалась генами *B1/b1* (безостость vs. остистость). Безостость колоса контролируется доминантным геном *B1*, расположенным в длинном плече хромосомы 5A [7, 8]. В качестве родителей использовались сорта озимой пшеницы Delta и Selection 2092. Материнская форма Delta имела рост 92 см, характеризовалась остистым колосом и была рыхлоколосой. Отцовский родитель Selection 2092 имел рост 85 см, был безостым и плотноколосым. По изоферментному составу бета-амилазы родители различались так, как представлено на рис. 1. Соответственно Delta имеет зимотип А, а Selection 2092 — зимотип В.

Учитывая, что родительские формы различались и по другим качественным признакам, оценивали

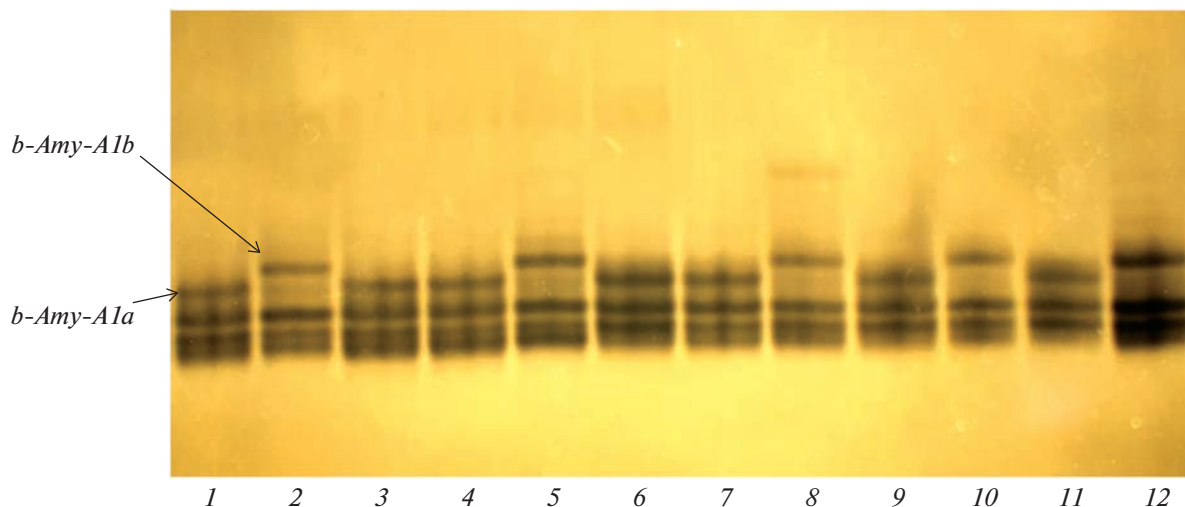


Рис. 1. Типы зимограмм бета-амилазы родителей Delta (1) и Selection 2092 (2), а также гомозиготного потомства $F \rightarrow \infty$ от их скрещивания (3–12). Стрелками показаны изоферменты бета-амилазы, контролируемые хромосомой 5A. Аллели *b-Amy-A1b* (Selection 2092) и *b-Amy-A1a* (Delta).

также их генетический контроль. Известно, что плотность колоса у пшеницы контролируется доминантным геном *C*, который локализован в длинном плече хромосомы 2D [9, 10]. Низкорослость пшеницы контролируется целым рядом генов, обозначенных символом *Rht*, и делится на генотипы нечувствительные к гиббереллину, которые контролируют локусы *Rht-B1*, *Rht-D1*, и чувствительные на гиббереллин, определяемые генами *Rht4–Rht22* [2].

β -Амилазу выделяли из зрелых предварительно раздавленных плоскогубцами зерен. В пробирки с раздавленными зерновками добавляли по 250 мкл 3%-ного раствора Na_2SO_3 и оставляли на ночь. После измельчения зерен в пробирках палочкой из нержавеющей стали полученную суспензию центрифугировали 4 мин при 10 000 об./мин. Затем в чистые пробирки отбирали по 10 мкл надосадочной жидкости и приливали по 10 мкл раствора, содержащего 2%-ный β -меркаптоэтанол, 40%-ную сахарозу и 0.03%-ный бромфеноловый синий. В стартовые ячейки геля наносили по 5 мкл экстракта. Условия электрофореза и состав компонентов геля подобны ранее описанным для ячменя [11]. Разделяющий гель содержал: акриламид 4.88 г, метиленабисакриламид 130 мг, трис 162.5 мг, глицин 0.98 г, персульфат аммония 41 мг, воду дистиллированную – до 65 мл, ТЕМЕД 24 мкл. В состав 1 л электродного буфера (pH 8.3) входило 1.2 г трис и 5 г глицина. Электрофорез вели при напряжении 300 В. Деление прекращали после выхода 1.5 меток красителя (1.5 ч). Инкубацию амилаз вели в ацетатном буфере, pH 5.7. Ацетатный буфер содержал 2.7 г уксусно-кислого натрия, 50.3 мл 0.2 М уксусной кислоты и доводился водой до 300 мл. В этот раствор добавляли 3–5 г

гидролизованного картофельного крахмала, и данная взвесь доводилась до кипения при постоянном размешивании. Время инкубации 20–25 мин. Все работы проводили при комнатной температуре. По окончании инкубации гелевые пластины промывали проточной водой и окрашивали раствором йода в йодном калии, содержащем KI – 2.5 г, I (кристалл.) – 1.3 г, ТХУ – 25.2 г, воду – до 500 мл.

Для оценки сцепления использовали χ^2 -тест [12, 13]. Величину рекомбинации определяли методом максимального правдоподобия [14]. Оценку сцепления на основе гомозиготных популяций старших поколений определяли по формулам, представленным ранее [15, 16].

Частоты аллелей рассчитывались из условий: если сорт имеет один аллель, то его количество составляет 1, а если сорт гетерогенен и несет два аллеля, то количество каждого аллеля составляло 0.5. Ошибки оценки частот генов определяли для диаллельного распределения, используя известные формулы, описанные П.Ф. Рокицким [12]. Существенность различий между частотами определяли по критерию Стьюдента [12].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты генетического анализа по некоторым морфологическим признакам в F_2 Delta $\times$ Selection 2092 представлены в табл. 1.

Как видно, рост растений (*Rht/rht*) наследовался независимо к признаку, определяющему безостость vs. остистость колоса (*B1/b1*). То же касается признаков плотноколосость vs. рыхлоколосость (*C/c*), которые также наследовались независимо. Проявление данных признаков иллюстрирует рис. 2.

Таблица 1. Анализ комбинации F₂ Delta × Selection 2092 по морфологическим признакам

Символы аллелей	Фенотипические классы в F ₂ (тестирование по F ₃)				Размер выборки	χ^2_L	Рекомбинация, %
		BB	Bb	bb			
$\frac{A}{a} \times \frac{B}{b}$							
$\frac{Rht}{rht} \times \frac{Bl}{bl}$	A- aa	10 3	19 4	13 7	56	2.13	Независимая
$\frac{Rht}{rht} \times \frac{C}{c}$	A- aa	6 9	22 4	14 1	56	13.81	22.59 ± 6.28
$\frac{Bl}{bl} \times \frac{C}{c}$	AA Aa aa	4 5 6	7 10 9	2 8 5	56	1.75	Независимая

В то же время обнаружено сцепление между признаками, определяющими рост растений и плотность колоса. Следовательно, локус *rht* расположен в хромосоме 2D на расстоянии $22.59 \pm \pm 6.28\%$ рекомбинации от гена *C* (плотный колос). Судя по сводке генов, определяющих высоту растений пшеницы [2], данное расщепление обусловлено различиями в аллелях гена *Rht8*, распо-

ложенного в коротком плече хромосомы 2D [17, 18]. Учитывая фенотипическое проявление высоты растений по результатам генетического анализа, можно заключить, что сорт Delta несет ген *Rht8a*, расположенный в хромосоме 2D. Другой родитель Selection 2092 является носителем аллеля *Rht8c*, снижающего высоту растений пшеницы приблизительно на 7 см [19].



Рис. 2. Расщепление по типам колоса в F₂→∞ Delta × Selection 2092 (1–4): 1 – тип колоса, характерен для Selection 2092; 4 – тип колоса, характерен для сорта Delta.

Таблица 2. Генетический анализ комбинации $F_{\rightarrow\infty}$ Delta $\times$ Selection 2092

Символы аллелей	Фенотипические классы в F_4			Размер выборки	χ^2_L	Рекомбинация, %
$\frac{A}{a} \times \frac{B}{b}$		BB	bb			
$\frac{C}{c} \times \frac{Rht8a}{Rht8c}$	AA aa	35 20	11 29	95	11.47	24.22 ± 1.18
$\frac{B1}{b1} \times \frac{Rht8a}{Rht8c}$	AA aa	25 30	17 23	95	0.01	Независимая
$\frac{B1}{b1} \times \frac{C}{c}$	AA aa	19 27	23 26	95	0.27	Независимая
$\frac{B1}{b1} \times \frac{b-Amy-A1a}{b-Amy-A1b}$	AA aa	38 7	4 46	95	56.10	6.55 ± 2.10

Генетический анализ данной комбинации скрещивания был продолжен в более старших поколениях самоопыления ($F_{\rightarrow\infty}$). Результаты представлены в табл. 2.

Самоопыляющиеся популяции более удобны тем, что являются гомозиготными, а отсутствие гетерозигот позволяет избежать возможных ошибок при классификации фенотипов. Более того, отсутствие гетерозигот увеличивает информативность таких выборок. Данный генетический анализ подтвердил сцепление генов *C* и *Rht8*. Полученная величина сцепления между этими генетическими факторами ($24.22 \pm 1.18\%$) близка к оценкам, полученным по результатам анализа F_2 (табл. 1), — $22.59 \pm 6.28\%$. Представленная популяция $F_{\rightarrow\infty}$ Delta $\times$ Selection 2092 подтвердила независимость наследования генов *B1* и *Rht8a*, а также *B1* и *C* (табл. 2).

Учитывая различия по зимотипам бета-амилазы родительских форм Delta и Selection 2092 (рис. 1), провели генетический анализ наследования данных вариантов фермента. Аллель, обуславливающий наличие более быстрого компонента бета-амилазы в медленно подвижной зоне зимограммы, обозначили символом *b-Amy-A1a*, а более медленного в этой зоне — *b-Amy-A1b*. Полученное соотношение гомозиготных фенотипов в $F_{\rightarrow\infty}$ по аллелям *b-Amy-A1a* и *b-Amy-A1b* составило 45 : 50 (табл. 2), что соответствует моногенному наследованию ($\chi^2_{1,1} = 0.16$; $P > 0.50$). Данные зимотипы обнаружили сцепление с геном *B1*. Так, фенотипы, несущие аллель *b-Amy-A1b*, как правило, были безостыми; наоборот, носители аллеля *b-Amy-A1a* чаще были остистыми. Величина сцепления локусов *b-Amy-A1* и *B1* составила $6.55 \pm 2.10\%$ (табл. 2).

Следовательно, различия в изоферментах бета-амилазы, несущих зимотипы А и В, обусловлены аллелями *b-Amy-A1a* и *b-Amy-A1b* хромосомы 5А, контролирующей синтез этого фермента.

В культуре озимой мягкой пшеницы наибольшее распространение имеют аллели *b-Amy-A1a* и *b-Amy-A1b*. По остальным локусам, контролирующим синтез бета-амилазы, сорта оказались менее разнообразными. Как правило, носители генетических факторов *b-Amy-A1a* и *b-Amy-A1b* по остальным локусам несли одинаковые аллели, обозначенные здесь как *b-Amy-B1a* и *b-Amy-D1a*. Следовательно, есть возможность оценить зональную ценность аллелей *b-Amy-A1a* и *b-Amy-A1b* хромосомы 5А на фоне аллелей *b-Amy-B1a* и *b-Amy-D1a* хромосом 4В и 4D.

Для установления особенностей зонального распространения аллелей *b-Amy-A1a* и *b-Amy-A1b* на фоне одинаковых генов *b-Amy-* хромосом 4В и 4D исследовали генотипы сортов озимой мягкой пшеницы, допущенных к использованию в сельскохозяйственном производстве [20] и несущих только указанные аллели (табл. 3). Следовательно, данный набор сортов прошел двойной отбор на условия внешней среды соответствующих регионов. Во-первых, отбор в региональных селекционных центрах и, во-вторых, отбор в результате государственных испытаний в этих регионах. Среди данного набора сортов было найдено несколько, имеющих новый аллель, обозначенный как *b-Amy-A1c*, контролирующий синтез наименее подвижного изофермента в медленной части зимограммы бета-амилазы. Остальные компоненты зимограммы этого фермента были идентичны носителям зимотипов А и В (рис. 3).

В связи с поставленной целью среди представленного списка сортов озимой мягкой пшеницы были выбраны их группы, созданные в соответствующих регионах европейской части России с юга на север. Результаты такой группировки и оценки частот встречаемости аллелей *b-Amy-A1a* и *b-Amy-A1b* данных наборов представлены в табл. 4.

Как видно, на юге европейской части России (регион I — Северный Кавказ) среди сортов ози-

Таблица 3. Дифференциация сортов озимой мягкой пшеницы по генам *B1/b1* и изоферментам бета-амилазы, обусловленным локусом *b-Amy-A1*

№	Название сорта	Фенотипы по генам		Оригинатор
		<i>B1/b1</i>	<i>b-Amy-A1</i>	
1	Аксинья	b1b1	A1a	АНЦ “Донской”, зерноград
2	Альмера	b1b1	A1a	Шестопалов И.О., Белгород
3	Армада	b1b1	A1a	СКФНАЦ, Ставрополь, 53
4	Ариадна	b1b1	A1a + A1b	БелФАНЦ РАН, Белгород, 5829
5	Акапелло	b1b1	A1b	ФРАНЦ, Ростов, 223
6	Аскет	b1b1	A1a + A1b	АНЦ “Донской”, зерноград
7	Белгородская 16	b1b1	A1a	БелГАУ, Белгород, 133
8	Богданка	b1b1	A1a*	БелФАНЦ РАН, Белгород, 5829
9	Везелка	b1b1	A1a	БелФАНЦ РАН, Белгород, 5829
10	Виктория	b1b1	A1b	СКФНАЦ, Ставрополь, 53
11	Волжская К	b1b1	A1a	НПЦ “Селекция”, Ульяновск
12	Волжская С 3	b1b1	A1a	НПЦ “Селекция”, Ульяновск
13	Волжская 100	b1b1	A1b	НПЦ “Селекция”, Ульяновск
14	Вольница	b1b1	A1a	АНЦ “Донской”, зерноград, 5917
15	Губернатор Дона	b1b1	A1a + A1b	ФРАНЦ, Ростов, 223
16	Донская степь	b1b1	A1a	АНЦ “Донской”, зерноград
17	Дон 107	b1b1	A1a	АНЦ “Донской”, зерноград
18	Донэра	b1b1	A1a	ФРАНЦ, Ростов, 223
19	Ермак	b1b1	A1a*	АНЦ “Донской”, зерноград
20	Жаворонок	b1b1	A1a	АНЦ “Донской”, зерноград
21	Зарница	b1b1	A1a	АНЦ “Донской”, зерноград, 5917
22	Звонница	b1b1	A1a	Шестопалов И.О., Белгород
23	Капитан	b1b1	A1a	АНЦ “Донской”, зерноград
24	Корочанка	b1b1	A1a	БелФАНЦ РАН, Белгород, 5829
25	Коротышка	b1b1	A1a	БелФАНЦ РАН, Белгород, 5829
26	Лариса	b1b1	A1a	БелФАНЦ РАН, Белгород, 5829
27	Левобережная 3	b1b1	A1c	ФАНЦ Юго-Востока, Саратов
28	Льговская 8	b1b1	A1a	ВНИИСС, Льгов, 95
29	Магия	b1b1	A1a	ФРАНЦ, Ростов, 223
30	Майская юбилейная	b1b1	A1a	БелГАУ, Белгород, 133
31	Московская 56	b1b1	A1a	ФИЦ “Немчиновка”, Москва, Москва, 168
32	Московская 40	b1b1	A1a	ФИЦ “Немчиновка”, Москва, Москва, 168
33	Немчиновская 17	b1b1	A1a	ФИЦ “Немчиновка”, Москва, Москва, 168
34	Немчиновская 57	b1b1	A1a	ФИЦ “Немчиновка”, Москва, Москва, 168
35	Оксана	b1b1	A1b	СГИ, Одесса
36	Партнер	b1b1	A1a	СКФНАЦ, Ставрополь, 53
37	Пионерская 32	b1b1	A1b	ОренбургГАУ
38	Прасковья	b1b1	A1a	НЦЗ, Краснодар, 25
39	Ростовчанка 3	b1b1	A1a	АНЦ “Донской”, зерноград
40	Ростовчанка 7	b1b1	A1a	АНЦ “Донской”, зерноград
41	Сирена	b1b1	A1a	БелФАНЦ РАН, Белгород, 5829
42	Синтетик	b1b1	A1a + A1b	БелФАНЦ РАН, Белгород, 5829
43	Северо-донецкая юбилейная	b1b1	A1a	ФРАНЦ, Ростов, 223
44	Софийка	b1b1	A1a	СГИ, Одесса
45	Станичная	b1b1	A1a	АНЦ “Донской”, зерноград
46	Сурава	b1b1	A1a	Шестопалов И.О., Белгород
47	Тарасовская 70	b1b1	A1a	ФРАНЦ, Ростов, 223
48	Шеф	b1b1	A1a	АНЦ “Донской”, зерноград
49	Черноброва	b1b1	A1b + A1a	СГИ, Одесса
50	Авеста	B1B1	A1b	ФРАНЦ, Ростов, 223
51	Агра	B1B1	A1b	ФРАНЦ, Ростов, 223

Таблица 3. Окончание

№	Название сорта	Фенотипы по генам		Оригинатор
		<i>B1/b1</i>	<i>b-Amy-A1</i>	
52	Алексеич	B1B1	A1b	НЦЗ, Краснодар, 25
53	Ахмат	B1B1	A1b + A1a	НЦЗ, Краснодар, 25
54	Безенчукская 380	B1B1	A1b	СФНЦ РАН, Самара, 21181
55	Безостая 100	B1B1	A1c	НЦЗ, Краснодар, 25
56	Бригада	B1B1	A1b	НЦЗ, Краснодар, 25
57	Виктория 95	B1B1	A1b	ФАНЦ Юго-Востока, Саратов
58	Вольный Дон	B1B1	A1b	АНЦ “Донской”, Зерноград, 5917
59	Гром	B1B1	A1b	НЦЗ, Краснодар, 25
60	Гомер	B1B1	A1b	НЦЗ, Краснодар, 25
61	Дар Зернограда	B1B1	A1b + A1c	АНЦ “Донской”, Зерноград
62	Девиз	B1B1	A1b	АНЦ “Донской”, Зерноград
63	Доля	B1B1	A1a + A1c	НЦЗ, Краснодар, 25
64	Дон 95	B1B1	A1b	АНЦ “Донской”, Зерноград, 5917
65	Доминанта	B1B1	A1b	ФРАНЦ, Ростов, 223
66	Дон 105	B1B1	A1b	АНЦ “Донской”, Зерноград
67	Донстар	B1B1	A1b	ФРАНЦ, Ростов, 223
68	Донской маяк	B1B1	A1b	АНЦ “Донской”, Зерноград, 5917
69	Донской сюрприз	B1B1	A1b	АНЦ “Донской”, Зерноград
70	Девиз	B1B1	A1b	АНЦ “Донской”, Зерноград
71	Джангаль	B1B1	A1b	ФАНЦ Юго-Востока, Саратов
72	Донщина	B1B1	A1a	АНЦ “Донской”, Зерноград
73	Ершовская 11	B1B1	A1a	ФАНЦ Юго-Востока, Саратов
74	Жемчужина Поволжья	B1B1	A1b	ФАНЦ Юго-Востока, Саратов
75	Зерноградка 9	B1B1	A1b	АНЦ “Донской”, Зерноград
76	Зерноградка 11	B1B1	A1b	АНЦ “Донской”, Зерноград
77	Зимница	B1B1	A1c	НЦЗ, Краснодар, 25
78	Золушка	B1B1	A1b	ФРАНЦ, Ростов, 223
79	Изюминка	B1B1	A1b	АНЦ “Донской”, Зерноград
80	Калач	B1B1	A1b	ФАНЦ Юго-Востока, Саратов
81	Капризуля	B1B1	A1b	АНЦ “Донской”, Зерноград
82	Конкурент	B1B1	A1b	АНЦ “Донской”, Зерноград
83	Краса Дона	B1B1	A1b + A1a	АНЦ “Донской”, Зерноград
84	Лауреат	B1B1	A1b	НЦЗ, Краснодар, 25
85	Левобережная 1	B1B1	A1c	ФАНЦ Юго-Востока, Саратов
86	Лилит	B1B1	A1b	АНЦ “Донской”, Зерноград
87	Льговская 4	B1B1	A1b	ВНИИСС, Льгов, 95
88	Марафон	B1B1	A1b	АНЦ “Донской”, Зерноград
89	Мелодия	B1B1	A1a	Омский АНЦ
90	Морозко	B1B1	A1b	НЦЗ, Краснодар, 25
91	Находка	B1B1	A1b	АНЦ “Донской”, Зерноград
92	Немчиновская 24	B1B1	A1b	ФИЦ “Немчиновка”, Москва, 168
93	Нива Ставрополя	B1B1	A1b	СКФНАЦ, Ставрополь, 53
94	Омская 5	B1B1	A1a	ОмскАНЦ
95	Омская 6	B1B1	A1b	ОмскАНЦ
96	Паритет	B1B1	A1b	СКФНАЦ, Ставрополь, 53
97	Табор	B1B1	A1b	НЦЗ, Краснодар, 25
98	Танаис	B1B1	A1b	АНЦ “Донской”, Зерноград
99	Тимирязевская 150	B1B1	A1b	НЦЗ, Краснодар, 25
100	Черноземка 115	B1B1	A1a	ВоронФАНЦ, Воронеж
101	Этюд	B1B1	A1b	АНЦ “Донской”, Зерноград
102	Юка	B1B1	A1b	НЦЗ, Краснодар, 25

Примечание. Жирным шрифтом выделены рекомбинантные по аллелям гена *B1* – *b-Amy-A1* фенотипы.

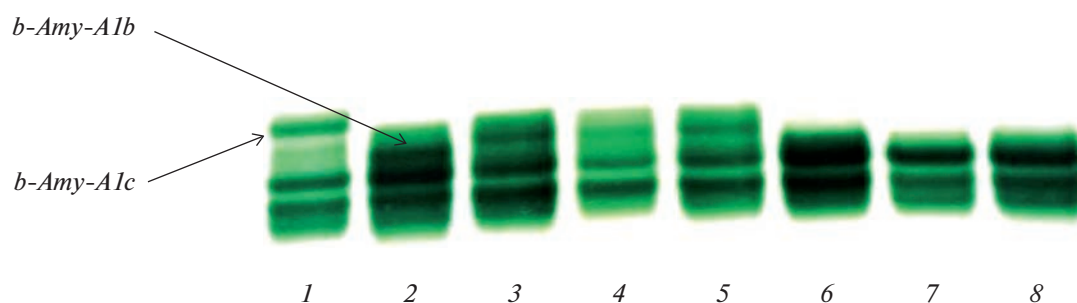


Рис. 3. Зимограммы некоторых сортов озимой мягкой пшеницы (1, 2 – Дар Зернограда, 3–5 – Донской маяк, 6–8 – Станичная), являющихся носителями следующих аллелей локуса *b-Amy-A1*: 1 – *A1c*, 2–5 – *A1b*, 6–8 – *A1a*.

мой пшеницы доминирует аллель *b-Amy-A1b*, контролирующий синтез бета-амилазы. По частоте встречаемости он существенно превышает альтернативный аллель *b-Amy-A1a* ($t = 4.87^{***}$). В пределах Ростовской области частоты данных аллелей близки между собой и различия в частотах между ними находились в пределах ошибки опыта (табл. 4). Двигаясь севернее (регион IV – ЦЧР + Нижневолжье), наблюдается доминирование аллеля *b-Amy-A1a* и уменьшение частоты встречаемости аллеля *b-Amy-A1b*. В данном случае различия в частотах распространения этих генетических факторов значимы – $t = 4.32^{**}$. Аналогичная ситуация наблюдается при дальнейшем продвижении на север. Так, на широте Московской области (регион V – Север ЦФО + Средневолжье) частота аллеля *b-Amy-A1a* составила 72.5%, а аль-

тернативного – лишь 25.0%. Различия в частотах значимы – $t = 3.27^*$ (табл. 4).

Не менее важно было оценить различия в уровне изменения частот аллелей при сравнении выделенных регионов. В данном случае наиболее контрастные различия наблюдались при сравнении географически более отдаленных регионов. Так, например, при сравнении частоты встречаемости аллеля *b-Amy-A1b* региона V (Север ЦФО + Средневолжье) с частотой этого аллеля из региона I (Северный Кавказ) наблюдалось существенное уменьшение его с юга на север – на 50.8% ($t = 2.60^*$; $P > 0.95$). Аналогичная закономерность прослеживается при сравнении частот встречаемости этого аллеля в условиях IV региона (Центрально-Черноземный регион + Нижневолжье) и I региона (Северный Кавказ). В этом слу-

Таблица 4. Распространение аллелей локуса *b-Amy-A1* среди районированных сортов озимой мягкой пшеницы в Российской Федерации, сгруппированных по широтному происхождению

Выделенные регионы	Встречаемость аллелей локуса <i>b-Amy-A1</i> в европейских регионах РФ с юга на север				Ошибка частоты встречаемости	Значимость (<i>t</i>)
	количество сортов с аллелями		частота аллелей			
	<i>A1a</i>	<i>A1b</i>	<i>A1a</i>	<i>A1b</i>		
I. Сев. Кавказ (НЦЗ, Краснодар; СКФНАЦ, Ставрополь)	4	12.5	0.242	0.758	0.106	4.87***
II. Юг Ростовской обл. (АНЦ “Донской”)	14	18.5	0.431	0.569	0.087	1.59
III. Север Ростовской обл. (ФРАНЦ, Тарасовский р-н)	4.5	6.5	0.409	0.591	0.148	1.23
IV. ЦЧР + Нижневолжье (БелФАНЦ РАН, Белгород; ВНИИСС, Воронеж, Льгов, Саратов)	15	6	0.714	0.286	0.099	4.32**
V. ЦФО + Средневолжье (ФИЦ “Немчиновка”, Москва; НПЦ, “Селекция”, Ульяновск)	6	2	0.725	0.250	0.153	3.27*
Итого	43.5	45.5	0.489	0.511	0.053	0.415

Примечание. Жирным шрифтом выделены значимые различия между частотами встречаемости.

*, **, *** Уровень вероятности соответственно равен 0.95, 0.99 и 0.999.

Таблица 5. Анализ коллекции сортов озимой мягкой пшеницы как $F_{\rightarrow\infty}$ для оценки сцепления локусов $B1/b1$ и $b-Amy-A1$

Символы аллелей	Фенотипические классы в F_4			Размер выборки	χ^2_L	Рекомбинация, %
		BB	bb			
$\frac{A}{a} \times \frac{B}{b}$						
$\frac{B1}{b1} \times \frac{b-Amy-A1a}{b-Amy-A1b}$	AA aa	6.5 39.5	42.5 7.0	95.5	49.13	5.56 ± 1.90

чае частота его с юга на север уменьшилась на 47.2% ($t = 3.26^{**}$; $P > 0.99$). В то же время различия между географически близкими регионами были малозначимы. Так, изменения в частотах аллеля $b-Amy-A1a$ между регионами V (Север ЦФО + + Средневолжье) и IV (Центрально-Черноземный + Нижневолжье) составило лишь 1.1% ($t = 0.06$; $P < 0.95$).

В целом наблюдается значимая закономерность в сторону уменьшения частоты встречаемости аллеля $b-Amy-A1b$ и увеличения частоты альтернативного генетического фактора $b-Amy-A1a$ в направлении с юга на север европейской части Российской Федерации.

Ранее было показано, что коллекцию сортов самоопылителя можно охарактеризовать как гомозиготную популяцию старших поколений, т.е. как $F_{\rightarrow\infty}$. В таком случае ее можно использовать для оценки сцепления генов, расположенных в одной группе сцепления [21]. Учитывая, что при данном подходе коллекция сортов озимой мягкой пшеницы сгруппирована по признакам ости-стость vs. безостость (гены $b1$ и $B1$), а также по аллелям $b-Amy-A1a$ и $b-Amy-A1b$, расположенным в хромосоме 5A, оценили встречаемость соответствующих фенотипов и определили величину сцепления между локусами $B1$ и $b-Amy-A1$.

Итак, соотношение представленных в табл. 3 фенотипов составило: $b1b1 + A1a : b1b1 + A1b : B1B1 + A1a : B1B1 + A1b = 39.5 : 7.0 : 6.5 : 42.5$. Расщепление в соответствии с ожидаемым в $F_{\rightarrow\infty}$ при моногенном наследовании должно составлять 1 : 1. Соответствие данному соотношению фенотипов по признаку ости-стость vs. безостость выразилось величиной $\chi^2_{b1} = 0.063$, что значимо при $P > 0.25$. По аллелям локуса $b-Amy-A1$ получены близкие значения, $\chi^2_{b-Amy-A1} = 0.124$, $P > 0.25$. При расчете на дигенное наследование (расщепление 1 : 1 : 1 : 1) величина $\chi^2_o = 49.32$; $P < 0.01$. Это свидетельствует об отклонении от независимого наследования данных генетических факторов. Соответственно в табл. 5 представлена величина χ^2 , обусловленная уровнем сцепления изученных локусов (χ^2_L).

Величина рекомбинации, рассчитанная на основе представленной коллекции сортов озимой мягкой пшеницы, составила $5.56 \pm 1.90\%$.

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. Нецветаев В.П., Акинишина О.В., Бондаренко Л.С., Моторина И.П. Полиморфизм по бета-амилазе зерна озимой мягкой пшеницы // Генетика. 2012. Т. 48. № 2. С. 168–174.
2. McIntosh R.A., Yamazaki Y., Dubcovsky J. et al. Catalogue of Gene Symbols for Wheat: 12th Intern. Wheat Genetics Symp. 8–13 September 2013. Japan: Yokohama, 2013. P. 1–167.
3. Ainsworth C.C., Gale M.D., Baird S. The genetics of beta-amylase isozymes in wheat. Allelic variation among hexaploid varieties and intrachromosomal gene locations // Theor. Appl. Genet. 1983. V. 66. P. 39–49.
4. Dabrowska T. Studies on chromosomal location of genes involved in beta-amylase isozymes in wheat kernels (*Triticum aestivum* L.) // Genetica Polonica. 1983. V. 24. P. 9–19.
5. Joudrier P., Caudeyron Y. Localisation chromosomique de genes controlant la synthese de certains constituants beta-amylasique du grain de Ble tendre // Comptes Rendus Ac. Sc. Paris, D. 1976. V. 282. P. 115–118.
6. Нецветаев В.П., Акинишина О.В., Козелец Я.О., Ащелова А.П. Хромосомная локализация генов, контролирующих изоферменты бета-амилазы мягкой пшеницы // Актуальные проблемы функционирования устойчивых агроценозов в системе адаптивно-ландшафтного земледелия: Матер. Всерос. научно-практ. конф. с междунар. участием и Всерос. школы молодых ученых 15–17 сентября 2020. Белгород, 2020. С. 284–293.
7. Sears E.R. The aneuploids of common wheat // Missouri Agricultural Experiment Station Res. Bull. 1954. 572. P. 59.
8. Chalmers K.J., Campbell A.W., Kretschmer J. et al. Construction of three linkage maps in bread wheat, *Triticum aestivum* // Austr. J. Agricultural Res. 2001. V. 52. P. 1089–1119.
9. Rao M.V.P. Mapping of the compactum gene C on chromosome 2D of wheat // Wheat Information Service. 1972. № 35. P. 9.

10. Unrau J. The use of monosomes and nullisomes in cytogenetic studies in common wheat // Scientific Agriculture. 1950. V. 30. P. 66–89.
11. Нецветаев В.П. Расположение β -амилазного локуса (*Bmy 1*) в хромосоме 4 ячменя // Цитология и генетика. 1993. Т. 27. № 5. С. 74–78.
12. Рокицкий П.Ф. Введение в статистическую генетику. Минск: Выш. шк., 1974. 442 с.
13. Persson G. An attempt to find suitable genetic markers for dense ear loci in barley I // Hereditas. 1969. V. 62. P. 25–96.
14. Allard R.W. Formulas and tables to facilitate the calculation of recombination values in heredity // Hilgardia. 1956. V. 24. № 10. P. 235–278.
15. Нецветаев В.П., Образцов И.С., Созинов А.А. Картирование локуса *Hrd G* в хромосоме 5 ячменя // Мол. механизмы генет. процессов (V Всес. симп. Тезисы). М.: Наука, 1983. С. 110.
16. Netsvetaev V.P., Sozinov A.A. Location of a hordein G locus, *Hrd G*, on chromosome 5 of barley // Barley Genetics Newsletter. 1984. V. 14. P. 4–6.
17. Korzun V., Röder M.S., Ganal M.W. et al. Genetic analysis of the dwarfing gene (*Rht8*) 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. V. 96. P. 1104–1109.
18. Worland A.J., Korzun V., Röder M.S. et al. Genetic analysis of the dwarfing gene *Rht8* in wheat. Part II. The distribution and adaptive significance of allelic variants at the *Rht8* locus of wheat as revealed by microsatellite screening // Theor. Appl. Genet. 1998. V. 96. P. 1110–1120.
19. Дубовец Н.И., Сычева Е.А., Дробот Н.И. и др. Пребридинговая оценка рекомбинантных и интрогрессивных пшенично-ржаных гибридов по аллельному составу генов короткостебельности *Rht-B1*, *Rht-D1*, *Rht8* и *Ddw1* // Весці Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. 2018. Т. 63. № 2. С. 146–154.
20. Электронный реестр ФГБУ “Госсорткомиссии” (вход доступа 22.12.2022) <https://reestr.gossortrf.ru>
21. Нецветаев В.П., Календарь Р.Н. Использование коллекции сортов самоопылителя для оценки эффекта сцепления между генами // Генетика. 1999. Т. 35. № 4. С. 474–483.

Chromosomal Location of the *b-Amy-A1* Gene and Distribution of Its Alleles in Winter Common Wheat Culture

V. P. Netsvetaev^{a, b, *}, Ya. O. Kozelets^a, A. P. Ascheulova^{a, b}, A. V. Petrenko^a, and O. V. Akinshina^a

^aBelgorod Federal Agrarian Scientific Center, Russian Academy of Sciences, Belgorod, 308001 Russia

^bBelgorod State University, Belgorod, 308015 Russia

*e-mail: v.netsvetaev@yandex.ru

The analysis of the chromosomal location of the *b-Amy-A1* gene, which controls the synthesis of wheat beta-amylase isoenzymes, was carried out by assessing the linkage with the *B1* (Awnless) marker gene located in the long arm of chromosome 5A. Results based on F_2 and F_{∞} Delta $\times$ Selection 2092 study. The *b-Amy-A1* locus showed $6.55 \pm 2.10\%$ linkage to the *B1* gene. In parallel, alleles of the *Rht8* locus, which causes dwarfing of plants, were identified and its linkage to the *C* gene (Compact spike) was established in $22.59 \pm 6.28\%$ (F_2) and $24.22 \pm 1.18\%$ (F_{∞}) of recombination in chromosome 2D. The Delta variety carries the *Rht8a* allele, and the Selection 2092 accession carries the *Rht8c* allele. A collection of winter common wheat varieties created and released in the Russia was studied. The selected cultivars carried identical *b-Amy-B1a* and *b-Amy-D1a* alleles of the 4B and 4D chromosome loci. At the same time, the most common *b-Amy-A1a* and *b-Amy-A1b* alleles of chromosome 5A differed. It was found that in the direction from south to north of European part, the frequency of the *b-Amy-A1a* allele increases from 24.2% (Northern Caucasus) to 72.50% (Moscow–Ulyanovsk regions). Accordingly, the frequency of the alternative allele *b-Amy-A1b* decreased from 75.8% (Northern Caucasus) to 25.0% (Moscow–Ulyanovsk regions). In the Rostov region, the ratio of the occurrence of alleles *b-Amy-A1a* to *b-Amy-A1b* was 42.5 to 57.5%. At the same time, already in the Central Chernozem region⁺, a significant dominance of the *b-Amy-A1a* allele over *b-Amy-A1b* was manifested. Using the collection of varieties as a population of F_{∞} demonstrated the linkage of *b-Amy-A1* with *B1* value in $5.56 \pm 1.90\%$ recombination.

Keywords: common wheat, beta-amylase, isoenzymes, genetic control, chromosomal location, marker genes.