



ПЕТЕРГОФСКАЯ КОЛЛЕКЦИЯ РЖИ И ЕЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

© А.В. Войлоков¹, С.П. Соснихина², Н.Д. Тихенко^{1,3}, Н.В. Цветкова^{1,2}, Е.И. Михайлова^{1,2}, В.Г. Смирнов²

¹ ФГБУН «Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова» РАН, Санкт-Петербургский филиал, Россия;

² ФГБУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия;

³ Институт генетики растений и исследований растений Лейбница, Гатерслебен, Германия

Для цитирования: Войлоков А.В., Соснихина С.П., Тихенко Н.Д., и др. Петергофская коллекция ржи и ее использование в генетических исследованиях // Экологическая генетика. – 2018. – Т. 16. – № 2. – С. 40–49. doi: 10.17816/ecogen16240-49.

Поступила в редакцию: 21.05.2018

Принята к печати: 13.06.2018

✿ В статье приводятся сведения об истории и методах создания Петергофской генетической коллекции ржи, основанной доцентом кафедры генетики и селекции Ленинградского университета В.С. Фёдоровым. Выделение самосовместимых мутантов, их скрещивание с самонесовместимыми растениями ржи и последующее самоопыление гибридов позволило вскрыть потенциал наследственной изменчивости гетерогенных и гетерозиготных сортов ржи. В ходе создания генетической коллекции изучали наследование качественных и количественных морфологических признаков, генетический контроль автофертильности, генетику мейоза, генетику межвидовой несовместимости. С помощью изозимных и молекулярных маркёров идентифицированы и в большинстве случаев картированы соответствующие гены. Фундаментальные исследования нашли свое отражение в практической селекции. Под руководством В.С. Фёдорова и В.Г. Смирнова был создан первый в России тетраплоидный сорт ржи Ленинградская тетра. В настоящее время на основании изучения генетики автофертильности получен исходный материал, который используется для совершенствования методов селекции популяционных сортов ржи. Обсуждаются возможности использования генетической коллекции ржи для решения ряда фундаментальных проблем генетики растений.

✿ **Ключевые слова:** генетика ржи; популяционные сорта; автофертильность; мейотические мутанты; межвидовая несовместимость; пшенично-ржаные гибриды.

PETERHOF COLLECTION OF RYE AND ITS USE IN GENETIC STUDIES

© A.V. Voylokov¹, S.P. Sosnikhina², N.D. Tikhenko^{1,3}, N.V. Tsvetkova^{1,2}, E.I. Mikhailova^{1,2}, V.G. Smirnov²

¹ Vavilov Institute of General Genetics (Saint Petersburg Branch), Saint Petersburg, Russia;

² Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia;

³ Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben, Germany

For citation: Voylokov AV, Sosnikhina SP, Tikhenko ND, et al. Peterhof collection of rye and its use in genetic studies. *Ecological genetics*. 2018;16(2):40-49. doi: 10.17816/ecogen16240-49.

Received: 21.05.2018

Accepted: 13.06.2018

✿ The article provides information about the history and methods of development of “Peterhof” rye genetic collection, founded by V.S. Fedorov, Associate Professor of the Leningrad University. Isolation of self-compatible mutants, their crosses with self-incompatible rye plants, and subsequent self-pollination of hybrids allowed to reveal the allele diversity in heterogeneous and heterozygous rye varieties. In the course of genetic collection assembly the study of inheritance of qualitative and quantitative morphological traits, genetic control of self-compatibility, genetics of meiosis, genetics of interspecific incompatibility was performed. The corresponding genes were identified and, in most cases, mapped using isozymes and molecular markers. Fundamental research was introduced into practical breeding. Under the direction of V. S. Fedorov, and V. G. Smirnov the first in Russia tetraploid rye variety Leningradskaja Tetra was produced. Currently, based on the study of the genetics of self-fertility, the initial material is being obtained and used for improving rye population varieties. The possibility of using the genetic collection of rye to solve the fundamental problems of plant genetics is discussed.

✿ **Keywords:** rye genetics; population varieties; self-fertility; meiotic mutants; interspecies incompatibility; wheat-rye hybrids.

ВВЕДЕНИЕ

Изучение наследственного разнообразия, представленного в генетических коллекциях микроорга-

низмов, животных и растений, позволило установить главные закономерности генетики, открыть важнейшие биологические явления и заложить основы для

формирования новых, подчас неожиданных направлений исследований [1]. Неоценима роль генетических коллекций в создании новых штаммов промышленных микроорганизмов, пород животных и сортов растений, они служат основой для изучения частной генетики видов [2]. В настоящее время сопоставление данных по частной генетике помогает раскрыть эволюционную историю возникновения особенностей в структурно-функциональной организации геномов разных видов на фоне сохранения их общих характеристик. Выбор ржи, как объекта исследований, сделанный в своё время основателем генетической коллекции ржи В.С. Фёдоровым, не был случаен. Рожь среди зерновых характеризуется наибольшей устойчивостью к неблагоприятным факторам среды, разносторонним использованием и является компонентом тритикале. Небольшое число ($n = 7$) крупных хромосом и однослойное расположение мейоцитов в пыльнике благоприятствуют цитогенетическим исследованиям. Важнейшее достоинство ржи — высокий уровень генетического разнообразия, поддерживаемый благодаря перекрестному опылению в популяциях культурной и сорно-полевой ржи. В ходе создания генетической коллекции ржи изучали наследование качественных и количественных морфологических признаков, генетический контроль автофертильности, генетику мейоза, генетику межвидовой несовместимости. Фундаментальные исследования нашли своё отражение в практической селекции. Под руководством В.С. Фёдорова и В.Г. Смирнова был создан первый тетраплоидный сорт ржи Ленинградская тетра. В настоящее время на основании изучения генетики автофертильности получен исходный материал, который используется для совершенствования методов селекции популяционных сортов ржи. Однако возможности генетической коллекции ржи в отношении проведения фундаментальных исследований и их приложения к селекции далеко не исчерпаны.

ИСТОРИЯ СОЗДАНИЯ ПЕТЕРГОФСКОЙ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ КОЛЛЕКЦИИ РЖИ

У истоков создания Петергофской генетической коллекции стояли сотрудники кафедры генетики и селекции Ленинградского (Санкт-Петербургского) государственного университета В.С. Фёдоров, В.Г. Смирнов, С.П. Соснихина. При создании коллекции, начиная с 60-х гг. прошлого века, использовали два основных подхода. Первый состоял в поиске и совместной изоляции растений с морфологическими отклонениями непосредственно в образцах сорно-полевой и культурной самонесовместимой ржи. На этом этапе были выделены как формы с доминантными признаками, характерными для сорно-полевой ржи — красноколосая, чёрноколосая, фиолетовозёрная, с антоциановой окраской ушек, так

и формы с рецессивными признаками, найденными в разных популяциях культурной и сорно-полевой ржи — безлигульностью, отсутствием воска или антоциана на отдельных частях растения, ветвлением колоса, карликовостью разных типов. Размножение этих форм в дальнейшем проводили путём групповой изоляции. Вовлечение выделенных форм в гибридо-логический анализ позволило установить соответствующие доминантные или рецессивные мутантные гены [3]. Второй подход заключался в использовании инбридинга, который позволяет эффективно вскрывать гетерозиготность исходных растений по рецессивным спонтанным мутациям. С помощью самоопыления отдельных растений ржи разные авторы на протяжении многих лет выделяли мутантные формы, которые были описаны, но не были сохранены из-за низкой завязываемости семян у самонесовместимых генотипов [3]. Средний уровень завязываемости семян у самонесовместимых растений ржи составляет несколько процентов. Однако в популяциях ржи встречаются растения с завязываемостью семян на уровне 20–50 %. Появление таких растений объясняется мутациями в мультиаллельных локусах *S* или *Z*, контролирующими реакцию несовместимости, протекающую по гаметофитному типу [4]. Следствием гаметофитного проявления локусов несовместимости является доминирование способности к завязыванию семян у гибридов между самосовместимой и самонесовместимой рожью. Доминирование объясняется тем, что у гетерозигот по мутации автофертильности половина пыльцевых зёрен несёт мутацию автофертильности и способна к прорастанию на рыльце гибрида. При создании коллекции использовали три источника мутаций самосовместимости, выделенные при инбридинге растений трёх разных популяций ржи. Полученные автофертильные линии вовлекали в скрещивания с самонесовместимыми образцами генетической коллекции, несущими отдельные маркерные гены и их сочетания. В F_2 таких гибридов закладывали автофертильные линии с различными сочетаниями маркерных признаков [3].

Высокий уровень гетерогенности и гетерозиготности популяций сорно-полевой (образец из Нахичевани) и культурной (сорт Вятка) ржи был подтверждён в исследованиях по специально разработанной схеме. Отдельные растения этих популяций скрещивали с двумя автофертильными линиями. Гибридные зерновки F_1 высевали группами, представляющими исходные растения популяций, а затем проводили индивидуальную изоляцию. В каждой из инбредных семей F_2 анализировали расщепление по морфологическим признакам. Расщепление по одному или нескольким признакам хотя бы в одной из семей в группе рассматривали как доказательство гетерозиготности исходного растения популяции. По этой схеме были

изучены 68 растений сорно-полевой ржи и 54 растения сорта Вятка. Выявленный спектр аномалий проростков и взрослых растений соответствовал ранее описанному внутривидовому разнообразию [3]. Среди аномалий проростков ожидаемо преобладали хлорофильные аномалии разного типа. Неожиданной стала высокая частота гетерозигот по генам, обуславливающим мужскую стерильность. В обеих популяциях она превышала 50 %. Мужскую стерильность регистрировали по морфологии пыльников и подтверждали микроскопическим анализом пыльцевых зёрен. Дальнейший цитологический анализ показал, что мужская стерильность в 7–8 % случаев обусловлена аномалиями мейоза. Для поддержания и изучения мейотических аномалий растения в семьях с расщеплением по стерильности изолировали. Часть потомств от растений, завязавших семена при самоопылении, высевали, а часть семян оставляли в резерве. В высеянном потомстве проводили отбор семей с расщеплением по установленным аномалиям. Это позволяло использовать семена из резерва этих семей для проведения гибридологического анализа с целью идентификации мей-генов, изучения их аллелизма и взаимодействия мутантных генов. По этой же схеме все мутации воспроизводили в гетерозиготном состоянии, а также проводили гибридологический анализ с участием линий с нормальным мейозом. В итоге этой работы были установлены и картированы гены, мутантные аллели которых ведут к нарушениям синапсиса и структуры мейотических хромосом. Исходно было идентифицировано 30 мутаций, нарушающих ход мейотических делений. В целом было установлено, что 82,3 % растений сорно-полевой ржи и 98,1 % растений Вятки оказались гетерозиготными по одному или нескольким генам, контролирующим морфологические признаки и мужскую стерильность. На основе этого разнообразия была создана коллекция мейотических мутантов, а формы с морфологическими отклонениями расширили ранее изученное разнообразие. Можно констатировать, что в ходе создания и изучения генетической коллекции ржи было идентифицировано 35 генов с морфологическим проявлением, из них 19 локализованы или картированы в хромосомах с помощью изозимных и молекулярных маркёров [5]. В пору расцвета коллекция включала более 100 самонесовместимых форм и более 300 инбредных линий как с нормальным фенотипом, так и с отдельными мутантными генами и их разными сочетаниями.

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕЙОТИЧЕСКИХ АНОМАЛИЙ

При исследовании мутантов, у которых мейоз блокирован или существенно изменен, выявляется система генов, контролирующая отдельные этапы мейотических делений, белки хромосом, синаптонемного

комплекса и веретена деления. Высокая концентрация спонтанных мутаций по мей-генам в изученных популяциях ставит вопросы о роли мейотических мутаций в эволюции генома ржи и природе самих мутаций. В коллекцию мей-мутантов ржи входит 21 мутант. Мутации затрагивают синапсис гомологичных хромосом, веретено деления и компактизацию мейотических хромосом [6–8]. Исследования мейоза проводили в двух направлениях. Первое включало сегрегационный анализ с целью установления числа генов, контролирующих отдельные аномалии, тест на аллелизм для рецессивных моногенных аномалий, получение двойных мутантов в случае неаллельных мутаций и картирование идентифицированных генов с помощью изозимных и молекулярных маркёров. В ходе этого анализа исследовали взаимодействия мутантных генов и на основании цитологических картин мейоза определяли последовательность включения генов в контроле мейотических делений. Второе было направлено на изучение мутантов с помощью дополнительных цитологических методов. Использовали электронно-микроскопическое исследование и методы молекулярной цитогенетики — иммуноцитохимическую локализацию рекомбиногенных и структурных белков хромосом и синаптонемного комплекса, флуоресцентную *in situ* гибридизацию (FISH) с целью выявления ранних дефектов как в поведении хромосом, так и при формировании мейотических структур. Путем генетического анализа, сопровождавшегося цитологическим исследованием мейоза, выявлено шесть типов мутаций.

1. Неаллельные асинаптические мутации *sy1* и *sy9*, у гомозигот по которым в профазе I формируются только осевые элементы хромосом, не наблюдалось синаптонемных комплексов (СК) и имелись аномалии формирования «букета» хромосом, а на стадии метафазы I мейоза в 96,8 и 67,0 % клеток соответственно все хромосомы были унивалентными.
2. Слабая асинаптическая мутация *sy3*, которая препятствует полному завершению синапсиса в профазе I. В СК всегда наблюдались субтерминальные асинаптические сегменты, а в метафазе I — не менее одной пары унивалентов, однако число клеток с 14 унивалентами не превышало 2 %.
3. Мутации *sy2*, *sy6*, *sy7*, *sy8*, *syl0* и *syl9*, вызывающие частично негомологичный синапсис: смену партнеров спаривания и синапсис хромосом «на себя» в профазе I. В метафазе I число унивалентов варьировало и наблюдались мультиваленты.
4. Мутация *mei6*, которая вызывает формирование ультраструктурных выростов на латеральных элементах СК, пробелы и ветвление этих элементов.
5. Аллельные мутации *mei8* и *mei8-10*, вызывающие неравномерную конденсацию хроматина вдоль хромосом в профазе I, липкость и фрагментацию хромосом в метафазе I.

6. Аллельные мутации *mei5* и *mei10*, вызывающие сверхконденсацию хромосом, нарушения формирования веретена деления и произвольный «арест» клеток на разных стадиях мейоза, но не влияющие на формирование оболочек микроспор даже вокруг клеток, заблокированных в развитии на стадии профазы I.

Анализ картин мейоза у двойных мутантов ржи позволил выявить эпистатические взаимодействия в ряду асинаптических мутаций: *sy10* > *sy9* > *sy1* > *sy3* > *sy19*. Этот ряд отражает последовательность включения генов, контролирующих синапсис хромосом, в профазе I мейоза. С помощью изозимных и молекулярных маркеров установлено расположение на генетических картах шести синаптических генов. Гены *sy1* и *sy19* картированы в длинном плече хромосомы 7R [9]. Гены *sy9* и *sy18* на хромосоме 2R вблизи центральной области [10–12]. Ген *sy10* располагается на дистальном конце хромосомы 5R [13], а ген *sy3* — на хромосоме 3R. Данные по совместному наследованию генов *mei* и их положение на генетических картах хромосом позволили предположить кластеризацию в локализации мей-генов. С помощью микросателлитных маркеров, сцепленных с мутантными генами, выделены двойные мутанты *sy1*, *sy9*. Согласно цитохимическим характеристикам СК фенотип двойного мутанта соответствует фенотипу мутанта *sy9* [14]. В этом отношении была подтверждена гипотеза, выдвинутая на основе гибридологического анализа относительно эпистатического взаимодействия этих генов *sy9* > *sy1*. Данные по картированию мейотических генов позволяют сравнивать ортологичные фрагменты генетических карт ржи и хорошо изученных родственных злаков (ячменя, риса, брахиподиума) и делать предположения относительно локализации у ржи известных мей-генов и их молекулярной функции.

Изучение фенотипического проявления мутаций на различных стадиях мейотического цикла осуществляли на цитологическом и ультраструктурном уровнях [6–8] с помощью методов молекулярной цитогенетики [15, 16]. При вступлении в мейоз у асинаптического мутанта *sy1* были выявлены дефекты кластеризации теломерных и центральных районов хромосом [17]. Иммуноцитохимически показано отсутствие у этого мутанта рекомбиногенных белков Rad51/Dmc1. Сделано предположение, что отсутствие этих белков может быть связано с нарушениями сплайсинга на уровне посттранскрипционной регуляции генов *RAD51* и *DMC1*, а *sy1* может влиять на это эпистатически. У мутанта *sy10* с гетерологичным синапсисом наблюдается переключение синапсиса с гомологичных хромосом на негомологичные. При гибридизации с зондами ДНК, специфичными для отдельных хромосом ржи (FISH), в метафазе II обнаружено, что 37 % редких бивалентов образованы негомологичны-

ми хромосомами и 30 % бивалентов включают короткое плечо хромосомы 4R [15]. Таким образом, можно предположить, что негомологичный синапсис может быть причиной образования транслокаций, которые играли важную роль в эволюции кариотипа у ржи [3]. При секвенировании генома ржи [18] установлено, что в результате таких транслокаций шесть из семи хромосом ржи представляют собой мозаики, составленные из синтенных фрагментов хромосом, которые у родственных видов входят в состав разных хромосом. У синаптических мутантов изучали динамику включения белков в СК, используя антитела к ортологичным белкам томатов и арабидопсиса. Известно, что белок Asy1 ассоциирован с хроматином вблизи осей хромосом, а Zip1 — белок центрального пространства СК. Белки, входящие в СК, изучены на всех стадиях профазы. У мутанта *sy19* вдоль хромосом наблюдается прерывистый сигнал Asy1, у растений дикого типа сигнал непрерывный. У мутанта *sy10* белки Asy1 и Zip1 образуют линейные треки, однако трехслойная структура СК не образуется и синапсис проходит гетерологично, как и у *sy19* [15, 16]. У мутанта *sy9* в 90 % клеток белок Asy1 отсутствует, в отличие от другого асинаптика *sy1*, где он выявляется в виде непрерывных линейных сигналов вдоль каждой хромосомы [15]. Важно отметить, что у ржи включение белка Zip1 в хромосомы происходит раньше, чем у других объектов, и до начала синапсиса этот белок выровнен в протяженную структуру вместе с Asy1. Консерватизм отдельных ключевых этапов мейоза и выявление гомологии основных генов [19], контролирующих мейоз, позволяют осуществить сравнительные геномные и протеомные исследования. Очевидные перспективы в этом отношении открывает полногеномное секвенирование ржи [20].

ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ РОДИТЕЛЬСКИХ ГЕНОМОВ У ПШЕНИЧНО-РЖАНЫХ ГИБРИДОВ И ПЕРВИЧНЫХ ОКТОПЛОИДНЫХ ТРИТИКАЛЕ

При скрещивании пшеницы и ржи, а также при изучении первичных гексаплоидных и октоплоидных тритикале описаны многочисленные случаи отклонений от нормального развития, появления аномальных признаков и нестабильности родительских геномов [21, 22]. Подобные проявления взаимодействия геномов можно отнести к несовместимости (инконгруэнтности) геномов, которая в ряде случаев имеет простую генетическую интерпретацию [23]. Нами была поставлена задача систематического поиска, сегрегационного анализа и картирования полиморфных генов пшеницы и ржи, комплементарным взаимодействием которых можно объяснить появление аномальных признаков в F_1 , а также функциональную и структурную нестабильность геномов у пшенично-ржаных гибридов и амфидиплоидов [24, 25].

Согласно предложенному подходу, на первом этапе проводили скрещивания пшеницы «стандартного генотипа» Chinese spring с возможно большим набором инбредных линий ржи. Цель этого этапа — обнаружение различий в проявлении признаков у полученных амфигаплоидов. В числе таких признаков были обнаружены аномалии морфогенеза, некроз и хлороз листьев, а также эмбриональная и проростковая летальности [24]. У первичных тритикале, полученных после удвоения хромосом у амфигаплоидов с нормальным развитием, анализировали количественные признаки, формирование которых также может зависеть от полиморфных генов ржи со специфическим проявлением у аллополиплоидов [26, 27]. Гибриды от скрещивания пшеницы с межлинейными гибридами ржи вовлекали в сегрегационный анализ. Обнаружение генов ржи, ответственных за наблюдаемые аномалии, и анализ сцепления с молекулярными маркерами проводили, исходя из моногибридного соотношения 1 : 1, являющегося следствием гаметического расщепления генов ржи. С помощью этого подхода у инбредных линий ржи были идентифицированы два мутантных гена, ведущих к летальности пшенично-ржаных гибридов. Оба гена были картированы в хромосоме 6R относительно одних и тех же молекулярных маркеров. Разное положение на генетической карте указывало на неаллельность мутаций *Hdw-R1* и *Eml-R1*. Последнее было подтверждено в сегрегационном тесте на аллелизм. Анализ гибридов между линиями ржи и нулли-тетрасомными линиями сорта Chinese spring подтвердил гипотезу о комплементарном взаимодействии генов ржи и пшеницы в определении эмбриональной летальности. Установлено, что эмбриональная летальность проявляется только в присутствии хромосомы 6A. На этом основании был сделан вывод, что хромосома 6A пшеницы Chinese spring несёт ген (аллель) межвидовой несовместимости, в то время как хромосомы 6B и 6D несут нормальные (совместимые) гомеоаллели этого гена. Показано, что хромосома 6A Chinese spring не проявляет комплементарности по отношению к мутации проростковой гибридной летальности ржи *Hdw-R1*. С помощью делеционного картирования показано, что ген эмбриональной летальности пшеницы *Eml-R1* расположен в фрагменте хромосомы 6A гомеологичном фрагменту хромосомы ржи 6R с геном *Eml*. Возможную роль установленных генов в эволюции злаков подтверждает факт локализации генов ржи *Eml-R1* и *Hdw-R1* в районе сегментного обмена между хромосомами шестой и третьей гомеологичных групп, который произошёл в ходе эволюционных преобразований генома ржи [18].

У пшенично-ржаных гибридов с нормальным развитием удваивали число хромосом с помощью колхицина. Это позволило изучить влияние генотипа инбредных линий ржи на формирование количественных

(высота растений, признаки колоса, фертильность) и качественных признаков (устойчивость к грибным болезням) у первичных октоплоидных тритикале. Показано, что октоплоидные тритикале, полученные на основе линий с геном доминантной короткостебельности *Ddw1*, в среднем короче, чем линии, полученные на основе линий с рецессивной аллелью этого гена [26]. В ходе работы обнаружены линии ржи, которые не несут гена доминантной короткостебельности, но гибриды этих линий с пшеницей характеризуются укороченным стеблем. Способность завязывать семена при самоопылении позволяет отнести тритикале к самосовместимым растениям. В то же время многие гексаплоидные и октоплоидные формы тритикале получены на основе самонесовместимых форм ржи и включают все хромосомы ржи. Такие амфидиплоиды содержат в своём генотипе активные аллели генов самонесовместимости, которые в случае их проявления должны вести к резкому снижению завязываемости семян при самоопылении. Отсутствие реакции самонесовместимости позволяет говорить о супрессии генов несовместимости ржи в генотипах тритикале. Мы имели возможность сравнить завязываемость семян у 27 образцов тритикале, полученных на основе линий ржи с мутациями, нарушающими функционирование системы несовместимости. В среднем завязываемость семян у линий тритикале с мутациями самосовместимости в локусе *T* в два раза превышала завязываемость семян у линий тритикале с мутациями в локусах *S* и *Z* [27]. Большое разнообразие линий ржи позволило изучить устойчивость самих линий и тритикале, полученных на их основе, к грибным болезням. Анализировали устойчивость к двум патогенам — *Puccinia recondita* sp.f *tritici*, представленным местной популяцией, и высокоагрессивному изоляту *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.), выделенному из природной популяции возбудителя (опытное поле ВИР, г. Пушкин). *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) является причиной двух болезней пшеницы — тёмно-бурой листовой пятнистости и обыкновенной корневой гнили. Из 91 исследованной линии ржи 41 линия оказалась устойчивой к бурой ржавчине. Однако линии первичных тритикале, полученные на основе восприимчивого сорта CS и устойчивых линий ржи, в большинстве случаев поражались бурой ржавчиной. Только две родственные линии могут служить донорами устойчивости к этому патогену для тритикалы и пшеницы. Возможной причиной восприимчивости является специфическая супрессия генов устойчивости ржи со стороны генотипа CS. При анализе устойчивости к *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) в тестах на пятнистость листьев и корневую гниль у инбредных линий ржи были обнаружены соответственно 16 и 6 устойчивых образцов. У межлинейных гибридов ржи установлен рецессивный характер

наследования устойчивости к тёмно-бурой листовой пятнистости. Октоплоидные тритикале, полученные на основе устойчивых линий ржи, оказались высоковосприимчивы к тёмно-бурой листовой пятнистости в фазе проростков. Этот факт соответствует рецессивному проявлению устойчивости собственно у ржи. Устойчивость тритикале к обыкновенной корневой гнили была обнаружена у амфидиплоидов, полученных на основе как устойчивых, так и восприимчивых линий ржи. Кроме того, наблюдалось внутри- и межсемейное разнообразие отдельных линий тритикале по реакции на заражение корней проростков изолятом *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) (неопубликованные данные). Это разнообразие было выявлено у ряда линий тритикале и при анализе устойчивости к другим болезням. Неоднородность по устойчивости может объясняться потерей хромосом ржи с генами устойчивости и сложностью генетического контроля устойчивости с разными уровнями пенетрантности и экспрессивности генов ржи и пшеницы, участвующих в контроле устойчивости. В качестве молекулярного механизма, усиливающего неоднородность по устойчивости, могут выступать структурные и функциональные перестройки родительских геномов, наблюдаемые у амфидиплоидов [28].

Линейное размножение тритикале, полученных на основе инбредных линий с фиксированными генотипами, позволяет создать материал для детального изучения механизмов стабилизации генома у тритикале и роли отдельных генов ржи в этом процессе. Очевидно, что такое изучение следует проводить в ходе последовательных поколений, начиная с момента удвоения хромосом у исходных пшенично-ржаных гибридов. Анализ «старых» амфидиплоидов, воспроизводимых длительное время, не даёт ответа на вопрос о специфике взаимодействия геномов ржи и пшеницы и динамике этого взаимодействия.

СЕЛЕКЦИОННЫЕ РАЗРАБОТКИ

Глубокое понимание генетики и творческий подход к ней как теоретической основе селекции позволили В.С. Фёдорову и В.Г. Смирнову создать один из первых сортов тетраплоидной ржи [29]. С этой целью в 1962 г. была заложена синтетическая популяция автотетраплоидной ржи. Для её создания использовали 13 автотетраплоидов разного происхождения, а также гибриды первого и второго поколений нескольких комбинаций скрещивания исходных тетраплоидов. Главным принципом при создании этой популяции было использование генетически разнообразного материала — экспериментальных автотетраплоидов, полученных на основе лучших отечественных и зарубежных диплоидных сортов. Гетерогенность исходного материала обеспечивала в синтетической популяции высокий уровень гетерозиготности, основанной на ал-

лельном разнообразии. При перекрёстном опылении гетерозиготность, а следовательно, и гетерозис в популяциях тетраплоидов сохраняется неограниченно долго. Аллельное разнообразие по генам с адаптивной и хозяйственной ценностью служило материалом для естественного и искусственного отборов. В частности, разнообразие по аллелям в локусах несовместимости, согласно предположению авторов, должно было вести к устранению главного недостатка автотетраплоидов у ржи — низкой завязываемости семян. К началу работы были известны такие положительные качества тетраплоидов, как более короткий и прочный стебель и почти вдвое большая масса 1000 зёрен. Созданную популяцию размножали без отбора в течение пяти лет на изолированных участках. Анализ изменчивости количественных признаков в разных условиях выращивания показал, что теоретические предположения оправдались. Уже в первом поколении созданная популяция сравнялась по фертильности с диплоидной рожью. По большинству признаков популяция тетраплоидной ржи оказалась стабильной, а по некоторым признакам наблюдались положительные изменения при сохранении главного достоинства тетраплоидной ржи — устойчивости к полеганию. Авторы объяснили подобное проявление признаков стабилизацией и сбалансированностью генотипической структуры популяции в ходе её свободного размножения. В 1967 г. через рекордный для ржи срок в пять лет синтетическая популяция тетраплоидной ржи, названная решением учёного совета биолого-почвенного факультета ЛГУ Фёдоровской тетраплоидной № 1, была принята в государственное сортоиспытание. После его успешного прохождения в Ленинградской области и Прибалтике сорт выращивали в производственных масштабах под названием Ленинградская тетра.

Действие жёсткой системы гаметофитной несовместимости у ржи исключает использование индивидуального отбора при создании и улучшении сортов-популяций. Все сортовые популяции созданы на основе массового или индивидуально-семейственного отбора. Однако селекция сортов-гибридов строится на индивидуальном отборе — путём отбора потомств от самоопыления. Инбредные линии выделяют из популяций гибридизации с источником автофертильности, последующим инбридингом и оценкой линий на комбинационную способность и другие полезные признаки. Изучение генетики автофертильности [30–32] позволило предложить схему внедрения индивидуального отбора и в селекцию сортов-популяций [33, 34]. Схема позволяет использовать преимущества наиболее эффективного индивидуального отбора (оценки и отбора инбредных потомств) для создания популяций разного целевого назначения на основе районированных, высокоадаптивных открыто-опыляемых сортов. Схема подразумевает

включение мутации автофертильности в селекционируемый материал, проведение однократного самоопыления сорто-линейных гибридов, всестороннюю оценку инбредных потомств, переопыление лучших из них по тем или иным показателям и последующее устранение мутации автофертильности с помощью изозимного маркера с восстановлением перекрестного опыления и популяционного гетерозиса. Вариант предложенной схемы, реализуемый в сотрудничестве с НИИСХ Северо-Востока, рассчитан на улучшение и диверсификацию районированных сортов-популяций, созданных на основе гена доминантной короткостебельности (сорт Снежана), и позволяет решить еще одну задачу селекции ржи — добиться константности растений по высоте в пределах сорта. С использованием ежегодно получаемых возвратных гибридов разрабатывается неразрушающий экспресс-метод оценки качества зерна ржи с помощью инфракрасной спектроскопии. Разработка этого метода позволит определять содержание отдельных компонентов и показателей качества в зерне с одного растения и использовать это зерно для посева уже в год получения урожая.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Потенциал генетической коллекции ржи до настоящего времени не был использован в должной мере. Его раскрытию может способствовать привлечение генных маркеров, разработанных на основе полногеномного секвенирования у ржи [20]. Инбредные линии, полученные на основе различных сортов культурной и образцов сорно-полевой ржи, несут функционально различные аллели генов, отвечающих за многообразие количественных признаков. Эти аллели влияют на урожайность, устойчивость и качественные характеристики зерна и биомассы. Проявление многих аллелей порознь или в сочетании друг с другом ведёт к инбредной депрессии, снижающей мощность развития, фертильность и выживаемость. Аллельное разнообразие экспериментальных линий значительно больше, чем разнообразие селекционных линий, которые проходят жёсткий отбор. Идентификация соответствующих генов и установление их функции представляют интерес с точки зрения изучения природы инбредной депрессии и гетерозиса, использования полезных аллелей для улучшения селекционных линий. Экспериментальные линии с нормальным фенотипом и линии с морфологическими мутациями могут служить для изучения природы спонтанных мутаций, структурных и функциональных перестроек генома ржи в ходе инбридинга. Аллельное разнообразие может возникать за счёт точковых мутаций, инсерций-делаций, встраивания мобильных элементов в последовательность генов. Своего рода моделью для выяснения природы спон-

танного мутирования могут служить гены с установленной функцией, а также мутации с качественным проявлением. В этой связи интересно отметить, что при создании коллекции выделено разное число линий с аллельными мутациями, имеющими морфологическое проявление. Большинство мутантных генов представлено только в одной из линий, в то время как независимо получены четыре образца с геном карликовости *ct2* и пять образцов с мутацией ветвистого колоса *m*. Мутация безантоциановости *vi1* идентифицирована у 13 линий независимого происхождения, а мутации *vi2-vi6* только в одной из линий каждая. Полногеномное ассоциативное картирование, проводимое с привлечением линий Петергофской генетической коллекции и гибридов линий с тестерами, позволит установить фрагменты хромосом, связанных с проявлением инбредной депрессии и гетерозиса. Рожь, благодаря высокой внутривидовой изменчивости, фиксированной в инбредных линиях, и низкому уровню неравновесия по сцеплению, является уникальным объектом среди родственных зерновых для такого рода исследований.

Часть исследований выполнена в рамках темы госзадания № АААА-А16-116111610177-3 «Генетика и селекция ржи на основе наследственного природного разнообразия»

ЛИТЕРАТУРА

1. Смирнов В.Г. Значение генетических коллекций для фундаментальных исследований // Идентифицированный генофонд растений и селекция / Под ред. Б.В. Ригина, Е.И. Гаевской. — СПб.: ВИР, 2005. — С. 783–806. [Smirnov VG. Znachenie geneticheskikh kollektсий dlya fundamental'nykh issledovaniy. In: Identifitsirovanny genofond rasteniy i selektsiya. Ed by B.V. Regin, E.I. Gayevskaya. Saint Petersburg: VIR; 2005. P. 783-806. (In Russ.)]
2. Филипченко, Ю.А. Частная генетика. Ч. 1. Растения. — Л.: Сеятель, 1927. [Filipchenko YA. Chastnaya genetika. Part 1. Rasteniya. Leningrad: Seyatel'; 1927. (In Russ.)]
3. Смирнов В.Г., Соснихина С.П. Генетика ржи. — Л.: Издательство ЛГУ, 1984. [Smirnov VG, Sosnikhina SP. Genetika rzhi. Leningrad: Izdatel'stvo. LGU; 1984. (In Russ.)]
4. Lundqvist A, Nilsson NH. The origin of self-compatibility in rye. *Hereditas*. 1960;46(1-2):1-19.
5. Войлоков А.В. Генетическое картирование у ржи *Secale cereale* L.: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — СПб., 2008. [Voilokov AV. Geneticheskoe kartirovanie u rzhi *Secale cereale* L. [dissertation] Saint Petersburg; 2008. (In Russ.)]
6. Соснихина С.П., Федотова Ю.С., Смирнов В.Г., и др. Изучение генетического контроля мейоза

- у ржи // Генетика. — 1994. — Т. 30. — № 8. — С. 1043–1056. [Sosnikhina SP, Fedotova YS, Smirnov VG, et al. The study of genetic control of meiosis in rye. *Genetika*. 1994;30(8):1043-1056. (In Russ.)]
7. Соснихина С.П., Кириллова Г.А., Михайлова Е.И., и др. Коллекция мейотических мутантов ржи // Идентифицированный генофонд растений и селекция / Под ред. Б.В. Ригина, Е.И. Гаевской. — СПб.: ВИР, 2005. — С. 273. [Sosnikhina SP, Kirillova GA, Mikhaylova EI, et al. Kolleksiya meyoticheskikh mutantov rzhii. Identifitsirovannyyu genofond rasteniy i selektsiya. Ed by B.V. Rigin, E.I. Gaevskaya. Saint Petersburg: VIR; 2005. P. 273. (In Russ.)]
 8. Соснихина С.П., Михайлова Е.И., Тихолиз О.А., и др. Коллекция мейотических мутантов ржи *Secale cereale* L. // Генетика. — 2005. — Т. 41. — № 10. — С. 1310–1321. [Sosnikhina SP, Mikhaylova EI, Tikholiz OA, et al. Genetic collection of meiotic mutants of rye *Secale cereale* L. *Genetika*. 2005;41(10):1310-1321. (In Russ.)]
 9. Малышев С.В., Долматович Т.В., Войлоков А.В., и др. Молекулярно-генетическое картирование асинхронных генов *sy1* и *sy9* ржи (*Secale cereale* L.) с использованием микросателлитных и изозимных маркеров // Генетика. — 2009. — Т. 45. — № 12. — С. 1634–1640. [Malyshev SV, Dolmatovich TV, Voylokov AV, et al. Molecular genetic mapping of the *sy1* and *sy9* asynaptic genes in rye (*Secale cereale* L.) using microsatellite and isozyme markers. *Genetika*. 2009;45(12):1634-1640. (In Russ.)]
 10. Войлоков А.В., Цветкова Н.В., Ловцюс А.В., и др. Использование генетических маркеров в изучении мейоза у ржи // Вестник Санкт-Петербургского университета. Серия 3. Биология. — 2005. — № 4. — С. 26–33. [Voylokov AV, Tsvetkova NV, Lovtsyus AV, et al. Using of genetical markers in the study of meiosis in rye. *Vestnik Sankt-Peterburgskogo universiteta. Seriya 3, Biologiya*. 2005;(4):26-33. (In Russ.)]
 11. Долматович Т.В., Малышев С.В., Соснихина С.П., и др. Картирование мейотических генов ржи (*Secale cereale* L.). Локализация мутации *sy18*, нарушающей гомологичность синапсиса, с использованием микросателлитных маркеров // Генетика. — 2013. — Т. 49. — № 4. — С. 472–478. [Dolmatovich TV, Malyshev SV, Sosnikhina SP, et al. Mapping of meiotic genes in rye (*Secale cereale* L.): Localization of *sy18* mutation with impaired homologous synapsis using microsatellite markers. *Genetika*. 2013;49(4):472-478. (In Russ.)]
 12. Долматович Т.В., Малышев С.В., Соснихина С.П., и др. Картирование мейотических генов ржи (*Secale cereale* L.). Локализация мутации *sy19*, нарушающей гомологичный синапсис, с помощью изозимных и микросателлитных маркеров // Генетика. — 2013. — Т. 49. — № 5. — С. 595. [Dolmatovich TV, Malyshev SV, Sosnikhina SP, et al. Mapping of meiotic genes in rye (*Secale cereale* L.): Localization of *sy19* mutation, impairing homologous synapsis, by means of isozyme and microsatellite markers. *Genetika*. 2013;49(5):595. (In Russ.)]
 13. Долматович Т.В. Молекулярно-генетический анализ и картирование мейотических мутаций у ржи (*Secale cereale* L.): Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Минск, 2011. [Dolmatovich TV. Molekulyarno-geneticheskiy analiz i kartirovanie meyoticheskikh mutatsiy u rzhii (*Secale cereale* L.). [dissertation] Minsk; 2011. (In Russ.)]
 14. Ловцюс А.В., Долматович Т.В., Михайлова Е.И., и др. Получение двойных мутантов по синхронным генам *sy1* и *sy9* у ржи и их изучение методами молекулярной цитогенетики // Вестник Санкт-Петербургского университета. Серия 3. Биология. — 2009. — № 4. — С. 48–57. [Lovtsyus AV, Dolmatovich TV, Mikhaylova EI, et al. Obtaining double mutants for synaptic genes *sy1* and *sy9* in rye and their study by means of molecular cytogenetic methods. *Vestnik Sankt-Peterburgskogo universiteta. Seriya 3, Biologiya*. 2009;(4):48-57. (In Russ.)]
 15. Михайлова Е.И., Ловцюс А.В., Соснихина С. П. Некоторые особенности реализации ключевых событий мейоза у ржи и ее синхронных мутантов // Генетика. — 2010. — Т. 46. — № 10. — С. 1371–1375. [Mikhaylova EI, Lovtsyus AV, Sosnikhina SP. Some features of meiosis key events in rye and its synaptic mutants. *Russian Journal of Genetics*. 2010;46(10):1371-1375. (In Russ.)]
 16. Mikhailova EI, Phillips D, Sosnikhina SP, et al. Molecular assembly of meiotic proteins *Asy1* and *Zyp1* and pairing promiscuity in rye (*Secale cereale* L.) and its synaptic mutant *sy10*. *Genetics*. 2006;174(3):1247-1258. doi: 10.1534/genetics.106.064105.
 17. Mikhailova EI, Sosnikhina SP, Kirillova GA, et al. Nuclear dispositions of subtelomeric and pericentromeric chromosomal domains during meiosis in asynaptic mutants of rye (*Secale cereale* L.). *J Cell Sci*. 2001;114(10):1875-1882.
 18. Martis MM, Zhou R, Haseneyer G, et al. Reticulate evolution of the rye genome. *Plant Cell*. 2013;25(10):3685-3698. doi: 10.1105/tpc.113.114553.
 19. Gerton JL, Hawley RS. Homologous chromosome interactions in meiosis: diversity amidst conservation. *Nat Rev Genet*. 2005;6(6):477-487. doi: 10.1038/nrg1614.
 20. Bauer E, Schmutzer T, Barilar I, et al. Towards a whole-genome sequence for rye (*Secale cereale* L.). *Plant J*. 2017;89(5):853-869. doi: 10.1111/tpl.13436.
 21. Ригин Б.В., Орлова И.Н. Пшенично-ржаные амфидиплоиды. — Л.: Колос, 1977. [Rigin BV, Orlova IN.

- Pshenichno-rzhanye amfidiploidy. Leningrad: Kolos; 1977. (In Russ.)
22. Ma XF, Fang P, Gustafson JP. Polyploidization-induced genome variation in triticale. *Genome*. 2004;47(5): 839-848. doi: 10.1139/g04-051.
23. Карпеченко Г.Д. Теория отдаленной гибридизации // Теоретические основы селекции растений / Под ред. Н.И. Вавилова. — М.; Л.: Сельхозгиз, 1935. — С. 293–354. [Karpechenko GD. Teoriya otdalennoy gibrizatsii. In: Teoreticheskie osnovy selektsii rasteniy. Ed by N.I. Vavilov. Moscow; Leningrad: Sel'khozgiz; 1935. P. 293-354. (In Russ.)]
24. Voylokov AV, Tikhenko ND. Identification and localization of rye polymorphic genes specifically expressed in Triticale. In: Proceedings of 4th International Triticale Symposium; 1998 Jul 26-31; Alberta.
25. Voylokov AV, Tikhenko ND. Triticale as a model for study of genome interaction and genome evolution in allopolyploid plants. In: Proceedings of the 5th International Triticale Symposium; 2002 30 Jun-Jul 5; Radzikow.
26. Тихенко Н.Д., Цветкова Н.В., Войлоков А.В. Анализ влияния генотипа родительских линий ржи на формирование количественных признаков у первичных октоплоидных тритикале. Высота растения // Генетика. — 2003. — Т. 39. — № 1. — С. 64. [Tikhenko ND, Tsvetkova NV, Voylokov AV. The effect of parental genotypes of rye lines on the development of quantitative traits in primary octoploid triticale: Plant height. *Russian journal of genetics*. 2003;39(1):64. (In Russ.)]
27. Тихенко Н.Д., Цветкова Н.В., Войлоков А.В. Анализ влияния генотипа родительских линий ржи на формирование количественных признаков у первичных октоплоидных тритикале. Фертильность колоса // Генетика. — 2003. — Т. 39. — № 3. — С. 370. [Tikhenko ND, Tsvetkova NV, Voylokov AV. The effect of parental genotypes of rye lines on the development of quantitative traits in primary octoploid triticale: Spike fertility. *Russian journal of genetics*. 2003;39(3):370. (In Russ.)]
28. Ma XF, Gustafson JP. Allopolyploidization-accommodated genomic sequence changes in triticale. *Ann Bot*. 2008;101(6):825-832. doi: 10.1093/aob/mcm331.
29. Фёдоров В.С., Смирнов В.Г. Синтетическая популяция тетраплоидной ржи // Вестник ЛГУ. — 1968. — № 9. — С. 46–56. [Fedorov VS, Smirnov VG. Sinteticheskaya populyatsiya tetraploidnoy rzhi. *Vestnik LGU*. 1968;(9):46-56. (In Russ.)]
30. Fuong FT, Voylokov AV, Smirnov VG. Genetic studies of self-fertility in rye (*Secale cereale* L.). 2. The search for isozyme marker genes linked to self-incompatibility loci. *Theor Appl Genet*. 1993;87(5):619-623. doi: 10.1007/BF00221888.
31. Voylokov AV, Fuong FT, Smirnov VG. Genetic studies of self-fertility in rye (*Secale cereale* L.). 1. The identification of genotypes of self-fertile lines for the Sf alleles of self-incompatibility genes. *Theor Appl Genet*. 1993;87(5):616-618. doi: 10.1007/BF00221887.
32. Егорова И.А., Войлоков А.В. Локализация мутаций автофертильности в S-локусе у инбредных линий ржи Петергофской генетической коллекции // Генетика. — 1998. — Т. 34. — № 8. — С. 1094-1099. [Egorova IA, Voylokov AV. Localization of self-fertility mutations at the S locus in inbred rye lines from the peterhoff genetic collection. *Russian journal of genetics*. 1998;34(8):1094-1099. (In Russ.)]
33. Смирнов В.Г., Войлоков А.В. Автофертильные формы перекрестноопыляющихся растений и перспективы их использования в селекции озимой ржи // Селекция ржи. Материалы симпозиума EUCARPIA. — Л.: ВИР, 1990. — С. 19–27. [Smirnov VG, Voylokov AV. Avtoferil'nye formy perekrestnoopylyayushchikhsya rasteniy i perspektivy ikh ispol'zovaniya v selektsii ozimoy rzhi. In: Seleksiya rzhi. (Conference proceedings) EUCARPIA. Leningrad: VIR; 1990. P. 171-177. (In Russ.)]
34. Войлоков А.В. Перспективы использования автофертильности в селекции сортов-популяций у ржи // Генетика. — 2007. — Т. 43. — № 10. — С. 1402–1410. [Voylokov AV. *Russian journal of genetics*. 2007;43(10):1402-1410. (In Russ.)]

✉ Информация об авторах

Анатолий Васильевич Войлоков — ФГБУН «Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова» РАН (Санкт-Петербургский филиал), Санкт-Петербург. E-mail: av_voylokov@mail.ru.

Светлана Петровна Соснихина — ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург. E-mail: sosnikhina@mail.ru.

Наталья Дмитриевна Тихенко — ФГБУН «Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова» РАН (Санкт-Петербургский филиал), Санкт-Петербург, Россия; Институт генетики растений и исследований растений Лейбница, Гатерслебен, Германия. E-mail: tikhenko@mail.ru.

✉ Information about the authors

Anatoly V. Voylokov — Vavilov Institute of General Genetics (Saint Petersburg Branch), St. Petersburg, Russia. E-mail: av_voylokov@mail.ru.

Svetlana P. Sosnikhina — Saint Petersburg State University, St. Petersburg, Russia. E-mail: sosnikhina@mail.ru.

Natalia D. Tikhenko — Vavilov Institute of General Genetics (Saint Petersburg Branch), St. Petersburg, Russia; Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben, Germany. E-mail: tikhenko@mail.ru.

✿ Информация об авторах

Наталья Владимировна Цветкова — ФГБУН «Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова» РАН (Санкт-Петербургский филиал), Санкт-Петербург; ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург. E-mail: n.tswetkova@spbu.ru.

Елена Игоревна Михайлова — ФГБУН «Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова» РАН (Санкт-Петербургский филиал), Санкт-Петербург; ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург. E-mail: a.i.mikhailova@spbu.ru.

Виктор Георгиевич Смирнов — ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург. E-mail: sosnikhina@mail.ru.

✿ Information about the authors

Natalia V. Tsvetkova — Vavilov Institute of General Genetics (Saint Petersburg Branch), St. Petersburg, Russia; Saint Petersburg State University, St. Petersburg, Russia. E-mail: n.tswetkova@spbu.ru.

Elena I. Mikhailova — Vavilov Institute of General Genetics (Saint Petersburg Branch), St. Petersburg, Russia; Saint Petersburg State University, St. Petersburg, Russia. E-mail: a.i.mikhailova@spbu.ru.

Viktor G. Smirnov — Saint Petersburg State University, St. Petersburg, Russia. E-mail: sosnikhina@mail.ru.