содержащей коллекционный и наименование образца и год последней закладки семян на хранение. Во избежание потери образца пересев семян с одновременным контролем характерных для него признаков осуществляется не реже, чем раз в пять лет. Такая динамика размножения и возобновления запаса семян коллекционных образцов позволяет постоянно иметь в наличии не менее 500–1000 г всхожих семян, что вполне достаточно для проведения запланированных исследовательских работ, обмена или односторонней передачи заинтересованным исследователям.

Данные о коллекционных образцах (паспортные данные, данные полевых и лабораторных исследований) хранятся в электронном виде, организованном в систему связанных баз данных, а также на бумажном носителе. Электронная система документирования нами создана для обеспечения нужд пользователей коллекции и управления данными об образцах. Она включает продолжительный ряд сведений от момента поступления образца вплоть до его использования, который организован в виде компьютерных файлов. Кроме того, имеется база фотографических изображений вегетирующих растений, их цветков, бобов в различной стадии развития, семян.

Список литературы

1. Пашкевич А.М. и др. Оценка коллекционных сортообразцов фасоли овощной по хозяйственным и биолого-морфологическим признакам / А.М. Пашкевич [и др.] // Овощеводство: сб. науч. ст. – Минск, 2015. – Т. 23. – С. 139–143.

2. Phaseolus bean: Post-harvest operations. Organisation: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Author: A.L. Jones. Edited by AGSI/FAO: Danilo Mejia (Technical), Beverly Lewis (Language & Style). [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.fao.org/3/a-av015e.pdf>. – Дата доступа: 29.02.2018.

DOI 10.18699/GPB2020-57

Наследование генов-маркеров к митохондриальной ДНК у аллоплазматических линий *T. dicoccum* x *T. aestivum*

Перфильев Р.Н.^{1*}, студент, Щербань А.Б.², д.б.н., с.н.с. Салина Е.А.², д.б.н., г.н.с.

¹Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск, Россия;

²Федеральный исследовательский центр институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия.

*e-mail: pervf.1999@gmail.com

С помощью молекулярных маркеров митохондриальных генов проанализированы аллоплазматические линии пшеницы, содержащие ядерный ге-

ном гексаплоидной пшеницы *T. aestivum* на фоне цитоплазмы тетраплоидной пшеницы *T. dicoccum*. У линии D-N-05 маркеры генов *rps19* и *orf256* соответствовали родительскому виду *T. dicoccum*. Секвенирование продукта ПЦР *orf256* подтвердила наследуемость митохондриального генома указанной линии от *T. dicoccum*. Остальные линии проявляли спектры ПЦР и CAPS-маркеров, соответствующие виду *T. aestivum*, что указывает на вытеснение митохондриального генома *T. dicoccum* в процессе беккроссирования с гексаплоидной пшеницей, за исключением линии D-N-05. Последняя линия является перспективной в плане изучения механизмов восстановления фертильности у гибридов с цитоплазматической мужской стерильностью.

Ключевые слова: аллоплазматические линии, *T. dicoccum*, ПЦР, CAPS-маркер, ЦМС, мягкая пшеница.

Inheritance of marker genes to mitochondrial DNA in alloplasmic lines of *T. dicoccum* x *T. aestivum*

Perfilev R.N., student, Novosibirsk Agriculture State University, Novosibirsk, Russia e-mail: pervf.1999@gmail.com

Shcherban A. B., d. b. s., s. r., Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

Salina E.A., d. b. s., c. r., Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

*Using molecular markers of mitochondrial genes, alloplasmic lines of wheat containing the nuclear genome of hexaploid wheat *T. aestivum* against the background of the cytoplasm of tetraploid wheat *T. dicoccum* were analyzed. In the D-N-05 line, the markers of the *rps19* and *orf256* genes corresponded to the parent species of *T. dicoccum*. Sequencing of the PCR product *orf256* confirmed the heritability of the mitochondrial genome of the specified line from *T. dicoccum*. The remaining lines showed PCR and CAPS marker spectra corresponding to the type *T. aestivum*, indicating the displacement of the mitochondrial genome of *T. dicoccum* in the process of backcrossing with hexaploid wheat, with the exception of the D-N-05 line. The latter line is promising in terms of studying the mechanisms of restoring fertility in hybrids with cytoplasmic male sterility.*

*Key words: alloplasmic lines, *T. dicoccum*, CAPS marker, PCR, CMS, wheat.*

Важным объектом для селекции, а также для изучения механизмов межвидовой гибридизации являются аллоплазматические линии, полученные в результате объединения ядра и цитоплазмы от разных видов. Зачастую у таких линий происходит конфликт ядра и цитоплазмы, в результате которого наблюдается цитоплазматическая мужская стерильность (ЦМС). Ключевая роль в формировании ЦМС принадлежит митохондриям и данный феномен ассоциирован с различными маркерами, в частности, с химерной рам-

кой считывания *orf256* вблизи гена *cox1* [1]. Случаи восстановления фертильности у аллоплазматических линий связывают с действием особых генов - восстановителей фертильности, которые у пшеницы, однако, до сих пор не были идентифицированы. Основная цель настоящей работы заключалась в идентификации родительских типов митохондриального генома у фертильных аллоплазматических линий между различными видами пшеницы.

Материал и методы. Материалом послужили 7-дневные проростки 10 аллоплазматических линий пшеницы. Линии получены, в Институте биологии и биотехнологии растений МОН Казахстана, профессором Н.А. Хайленко в результате многолетнего отбора (F12) из гибридного потомства (F3BC2) *T. dicoccum* Schuebl. var. Araratum (Host.) x ♂ *T. aestivum* L. (Мировановская 808) [2].

ДНК выделяли из 7-дневных проростков согласно стандартной методике с бисульфитом натрия. В качестве маркеров генов митохондриальной ДНК использовали следующие комбинации праймеров (условия ПЦР даны в соответствующих статьях): 1) *orf256f*: ggaagggaaccaatcaagtcacc; *orf256r*: gatcctgctcgtaaaggtcag [3]; 2) *rps19f*: tgctccgtactcattacaatgg; *rps19r*: atagggtctctcgctccgtg [4]. В случае *orf256* продукты ПЦР обрабатывали рестрикционной эндонуклеазой *Taq* I (Сибэнзим, Новосибирск) с последующим электрофорезом (CAPS- маркер).

Продукты ПЦР разделяли в 2 % агарозном геле с добавлением этидиум бромид. Гель фотографировали с помощью GelDoc XR (BioRad, England). Продукт ПЦР *orf256* вырезали из геля, очищали с помощью кита (QIAGEN, Germany) и секвенировали с использованием bigdye terminator v3.1 cycle sequencing kit (Applied Biosystems, USA). Анализ продуктов секвенирования проводили в Центре коллективного пользования «Геномика» СО РАН.

Результаты и обсуждение. На рис. 1 представлен результат электрофореза обработанных рестриктазой *Taq* I продуктов ПЦР, полученных с помощью праймеров *orf256f/r*. Видно, что спектр рестрикции линии D-N-05 наиболее соответствует спектру родительского вида *T. dicoccum*, тогда как у остальных линий картина рестрикции соответствует типу *T. aestivum*.

Рисунок 1. CAPS – маркер с праймерами *orf256f/r*.

В ходе анализа первичной структуры продуктов амплификации с праймерами orf256f/r, результат удалось получить только у линии D-N-05, при этом нуклеотидная последовательность этой линии соответствует митДНК *T. timopheevii* (AP013106) и ЦМС- линии *T. timopheevii* (♀) x *T. aestivum* (X56186).

Результаты по маркеру *rps19* (Рис. 2), в свою очередь, согласуются с результатами на Рис. 1, а именно: продукт ПЦР линии D-N-05 по длине (111 пн) соответствует *T. dicoccum*, а также *T. timopheevii* (AP013106) и ЦМС- линии *T. timopheevii* (♀) x *T. aestivum* (X56186). У остальных линий длина фрагмента соответствует виду *T. aestivum*.

Рисунок 2. Результат электрофореза продуктов ПЦР с праймерами *rps19*f/r.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о наследовании типа митохондриальной ДНК мужского родителя (*T. aestivum*) у большинства исследованных линий (гомоплазмия), за исключением линии D-N-05, у которой выявлено преобладание типа митохондрий материнского вида *T. dicoccum*. В дальнейшем планируется идентифицировать гены-восстановители фертильности в составе ядерного генома у этой линии.

Благодарности: Работа выполнена при поддержке гранта Минобрнауки № 0324-2019-0039-С-01.

Список литературы

1. Hedgcoth C. A chimeric open reading frame associated with cytoplasmic male sterility in alloplasmic wheat with *Triticum timopheevii* mitochondria is present in several *Triticum* and *Aegilops* species, barley, and rye / Hedgcoth C., El-Shehawi A. M., Wei P., Clarkson M., Tamalis D. // *Curr. Genet.* – 2002. – Vol. 41. – P. 357–365.
2. Terletskaya N.V. Drought Stress Tolerance and Photosynthetic Activity of Alloplasmic Lines *T. dicoccum* x *T. aestivum*. / Terletskaya N.V., Shcherban A.B., Nesterov M.A., Perfil'ev R. N. et al. // *Int. J. Mol. Sci.* – 2020 – V. 21, № 9 – 3356.
3. El-Shehawi, A.M. Genetic Fingerprinting of Wheat and Its Progenitors by Mitochondrial Gene orf256. / El-Shehawi, A.M.; Fahmi, A.I.; Sayed, S.M.; Elseehy, M.M. // *Biomolecules* 2012. 2. – P. 228–239.
4. Noyszewski A.K. Mitochondrial sequence diversity among alloplasmic and euplasmic triticum species. Doctoral dissertation, North Dakota State University, Fargo, 2013.