

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук»

На правах рукописи

Киселёва Антонина Андреевна

**ЛОКАЛИЗАЦИЯ И ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ГЕНОВ В-ГЕНОМА МЯГКОЙ
ПШЕНИЦЫ, ИНДУЦИРУЮЩИХ КОЛОШЕНИЕ**

Генетика – 03.02.07

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель –
доктор биологических наук, профессор
Салина Елена Артемовна

Новосибирск – 2018

Оглавление

Оглавление	2
Перечень условных обозначений.....	6
Введение	7
Глава 1. Обзор литературы	16
1.1 Генетические механизмы инициации цветения у <i>A. thaliana</i>	16
1.1.1 Фотопериодический путь регуляции инициации цветения	17
1.1.2 Регуляция холодом (яровизация).....	21
1.1.3 Регуляция температурой окружающей среды.....	22
1.1.4 Общий автономный путь.....	23
1.1.5 Стадия развития растения	23
1.1.6 Углеводный статус	23
1.1.7 Гормональная регуляция времени цветения	23
1.1.8 Заключение по главе 1.1	24
1.2 Механизмы формирования времени колошения <i>Triticum aestivum</i>	25
1.2.1 Гены <i>VRN</i> определяют чувствительность к яровизации	26
1.2.2 Гены <i>PPD-1</i> определяют чувствительность к фотопериоду (длине дня) ..	30
1.2.3 Рецепторы света – фитохромы	39
1.2.4 Гены циркадных ритмов пшеницы	40
1.2.5 Другие генетические локусы, ассоциированные со временем колошения пшеницы	44
1.2.6 Фитогормоны	45
1.2.7 микроРНК.....	45
1.2.8 <i>TaFT1</i> – интегратор путей времени цветения.....	46
1.2.9 Заключение по главе 1.2.....	47
1.3 Гены В-генома мягкой пшеницы, ассоциированные с временем колошения .	51
Глава 2. Материалы и методы	53
2.1 Растительный материал и анализ фенотипа	53
2.1.1. Почти изогенные линии <i>Triticum aestivum</i> L.....	53
2.1.2. Рекомбинантные инбредные хромосомные линии (RICL), полученные от скрещивания мягкой пшеницы сорта Chinese Spring (CS) и линии сорта Chinese Spring с замещенной хромосомой 5B на хромосому 5B <i>T. dicoccoides</i> (CS-5Bdic).....	54
2.1.3. Анеуплоидные линии сорта Chinese Spring	55

2.2 Методы	55
2.2.1 Выделение ДНК из растений почти изогенных линий и их родительских сортов Sonora и ФЧЛ2	55
2.2.2 SSR-генотипирование	56
2.2.3 Изучение аллельного состава генов <i>VRN-1</i> и <i>PPD-1</i> с использованием опубликованных аллель-специфичных праймеров.....	57
2.2.4 Нарabотка ПЦР-продуктов генов <i>PPD-1</i> и последующее лигирование в вектор	58
2.2.5 Приготовление компетентных клеток и трансформация	59
2.2.6 Отбор колоний, содержащих целевые вставки, и выделение плазмидной ДНК	60
2.2.7 Секвенирование целевых последовательностей.....	60
2.2.8 Количественная ПЦР в реальном времени для определения копийности гена <i>PPD-B1</i>	60
2.2.9 Анализ межкопийной области гена <i>PPD-B1</i>	61
2.2.10 Биоинформатический анализ промоторов генов.....	61
2.2.11 Анализ количественной экспрессии генов фотопериода в течение суток	62
2.2.12 Статистический анализ	63
2.2.13 Выделение ДНК растений популяции RICL от скрещивания CS × CS-5Bdic	63
2.2.14 SNP-генотипирование	64
2.2.15 Скрининг популяции RICL с праймерами, специфичными к гену <i>VRN-B1</i>	64
2.2.16 Разработка генетической карты	65
2.2.17 QTL-анализ (выявление локусов количественных признаков) времени колошения.....	66
2.2.18 Выявление генов – кандидатов, определяющих различия по времени колошения.....	66
Глава 3. Результаты	67
3.1 Оценка аллельного состояния известных генов, ассоциированных с временем колошения, у NILs и их родительских линий	67
3.1.1 Аллели генов <i>VRN-1</i> у анализируемых изогенных линий.....	67
3.1.2 Анализ аллельного состава генов <i>PPD-1</i>	68
3.2 SSR генотипирование для определения локуса, ассоциированного со временем колошения у NILs	69

3.3 Характеристика локуса, локализованного на коротком плече хромосомы 2В и ассоциированного со временем колошения почти изогенных линий	72
3.3.1 Анализ последовательностей нечувствительного к фотопериоду аллеля <i>Ppd-B1a</i>	73
3.3.2 Измерение копийности гена <i>PPD-B1</i> и анализ межкопийного района.....	74
3.3.3 Биоинформатический анализ промоторов генов <i>PPD-1</i>	76
3.3.4 Сайты связывания, специфичные для гена <i>PPD-B1</i>	80
3.4 Анализ времени колошения линий популяции RICL от скрещивания CS и CS-5Bdic	81
3.5 Аллели известных генов, которые могут быть связаны с различием по времени колошения CS и CS-5Bdic.....	83
3.6 SNP-генотипирование для определения локуса, ассоциированного со временем колошения у популяции RICL.....	83
3.6.1 Генетическая карта хромосомы 5В.....	83
3.6.2 QTL-анализ	86
3.7 Идентификация генов - вероятных детерминант времени колошения, локализованных в прицентромерной области хромосомы 5В	88
3.8 Анализ паттернов суточной экспрессии генов цветения пшеницы.....	88
3.8.1 Паттерны экспрессии <i>Ppd-B1a</i> и <i>PHYC</i> коррелируют у нечувствительных к фотопериоду линий	91
3.8.2 Корреляции экспрессии <i>TaFT1</i>	92
3.8.3 Особенности паттернов экспрессии генов цветения у линий с нечувствительным к фотопериоду аллелем <i>Ppd-B1a</i>	92
Глава 4. Обсуждение	94
4.1 Локус на хромосоме 2В, ускоряющий время колошения на коротком дне, несет аллель <i>Ppd-B1a</i>	94
4.1.1 Транскрипционные факторы, общие для всех <i>PPD-1</i> генов	96
4.1.2 Специфичные для гена <i>PPD-B1</i> транскрипционные факторы и их вероятное участие в регуляции экспрессии данного гена	97
4.2 Локус в прицентромерной области хромосомы 5В, влияющий на время колошения, и гены-кандидаты для данной области	99
4.2.1 <i>WRKY</i> может контролировать инициацию цветения	101
4.2.2 <i>ERF/AP2</i> вовлечен в формирование структур цветка	102
4.2.3 <i>FHY3/FAR1</i> участвует в передаче сигнала от фитохромов	103
4.2.4 <i>ELF4</i> , ген циркадных ритмов растений.....	103
4.3 Новые данные о взаимодействии генов времени колошения по результатам оценки их паттернов суточной экспрессии	104

4.4 Вклад локуса, расположенного в прицентромерной области хромосомы 5В, во взаимодействие <i>PHYC</i> и <i>PPD-B1</i>	106
Заключение.....	108
Выводы	110
Список литературы.....	111
Приложения.....	143

Перечень условных обозначений

PPD-1 – *PHOTOPERIOD-1*, основной ген, контролирующий ответ на фотопериод

VRN-1 – *VERNALIZATION-1*, основной ген, контролирующий ответ на яровизацию

TaFT1 – *Triticum aestivum FLOWERING LOCUS T*, ген – интегратор путей колошения пшеницы

PRR – *Pseudo Response Regulator*, семейство генов, к которым относятся *PPD-1*

п.н. – пара нуклеотидов

NILs – Near Isogenic Lines, почти изогенные линии

RICL – Single Chromosome Recombinant Inbred lines, рекомбинантные инбредные хромосомные линии

CS – сорт мягкой пшеницы Chinese Spring

CS-5Bdic – линия сорта Chinese Spring, у которой хромосома 5B заменена на хромосому 5B *T. dicoccoides*

ФЧЛ2 – Фотопериод Чувствительная Линия 2

ПЦР – Полимеразная Цепная Реакция

SSR – Simple Sequence Repeat, короткий tandemный повтор (микросателлиты)

SNP – Single Nucleotide Polymorphism, однонуклеотидный полиморфизм

5BS – короткое плечо хромосомы 5B

5BL – длинное плечо хромосомы 5B

QTL – Quantitative Trait Loci, локусы количественного признака

ФПЧ – чувствительность к фотопериоду

TSS – Transcription Start Site, сайт старта транскрипции

TFBS – Transcription Factor Binding Site, сайт связывания транскрипционного фактора

cM – centiMorgan, сантиМорган, единица измерения генетических расстояний

Введение

Актуальность темы исследования и степень разработанности темы

Мягкая пшеница (*Triticum aestivum* L.) – важная сельскохозяйственная культура, адаптированная к возделыванию в различных экологических условиях. Длительная domestикация пшеницы позволила приспособить данную культуру к широкому спектру климатических условий. Во многом это стало возможно благодаря варьированию такого важного адаптивного признака, как время колошения.

Обобщая известную информацию о путях инициации колошения у пшеницы, можно сказать, что данный признак формируется потребностью растения в яровизации, чувствительностью к фотопериоду, циркадными ритмами, рецепторами света, фитогормонами, и другими факторами. Функцию интегральной молекулы, воспринимающей сигналы от различных молекулярных путей выполняет TaFT1, транспортирующийся из вегетативных тканей в апикальную меристему и иницирующий гены флоральных меристем при участии экспрессирующегося в апикальной меристеме *VRN-1*. Несмотря на значительное разнообразие факторов, влияющих на время инициации цветения пшеницы, основными регуляторами, оказывающими наиболее сильное влияние на признак, являются потребность в яровизации, определяемая, в первую очередь, генами *VRN-1*, и чувствительность к фотопериоду, определяемая генами *PPD-1*. Известны аллели этих генов, влияющие на фенотип растения в различной степени. Так, например, различные доминантные аллели *PPD-1* генов сокращают время колошения на разное число дней. Такое разнообразие дает возможность подбирать подходящие сорта к конкретным климатическим условиям.

Говоря о генах, влияющих на время колошения *Triticum aestivum* ($2n = 42$, геном BBAADD), важно заметить, что многие ключевые гомеологичные гены, располагающиеся на хромосомах А, В и D геномов, экспрессируются с разной интенсивностью, и, следовательно, вносят различный вклад в формирование признака. Так, например, такие важные гены как *PPD-1* и *TaFT1*, *GI*, *CO2* наиболее

сильно экспрессируются в составе В-генома (Shaw et al., 2012). Нечувствительные к фотопериоду аллели *Ppd-B1a* отличаются такими мутациями, как увеличение числа копий гена или инсерция, в то время как для гомеологичных *Ppd-A1a* и *Ppd-D1a* типичны делеции в промоторной области. Кроме того, известно значительное число локусов, в том числе в В-геноме, связанных со временем колошения, гены для которых еще не идентифицированы (Miles et al., 2014).

Таким образом, исследование генов В-генома мягкой пшеницы, связанных с колошением, механизмов их регуляции и взаимодействий, представляет собой значительный интерес как с точки зрения изучения механизмов формирования данного признака, так и с сельскохозяйственной точки зрения – подбор и выведение сортов с подходящими локусами и генами, модулирующими время колошения.

Лаборатория располагает двумя генетическим моделями, контрастными по времени колошения и подходящими для изучения генов, контролирующих этот признак. Первая модель – почти изогенные линии мягкой пшеницы (*Ppd-m* и *Ppd-0^m*, *Ppd-w* и *Ppd-0^w*), различающиеся по срокам колошения на коротком дне, получены от скрещивания рано переходящего к колошению сорта Sonora (донор) и линии ФЧЛ2 (реципиент), поздно переходящей к колошению. Линии предположительно отличались по хромосоме 2В. Данные линии были разработаны проф. Кошкиным В. А. и проф. Мережко А. Ф. во ВНИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова (ВИР). Вторая модель – популяция рекомбинантных инбредных хромосомных линий, полученных от скрещивания сорта Chinese Spring (CS) и линии сорта Chinese Spring (CS-5Bdic) с замещенной хромосомой 5В, переходящей к колошению на две недели позже первого родителя.

Цель и задачи исследования

Целью данного исследования является идентификация и характеристика генов, локализованных на хромосомах 2В и 5В мягкой пшеницы, индуцирующих переход от вегетативной к генеративной фазе, и изучение их вклада в формировании времени колошения.

Для реализации этой цели были поставлены следующие задачи:

1. Выявление генов, определяющих различия по чувствительности к фотопериоду у почти изогенных линий *Ppd-m* и *Ppd-w*;
2. Анализ структурной организации гена *Ppd-B1*, локализованного на хромосоме 2В, у почти изогенных линий *Ppd-m* и *Ppd-w*;
3. Идентификация генов на хромосоме 5В, детерминирующих различия по времени колошения между линиями популяции RICL от скрещивания CS x CS-5Bdic;
4. Характеристика суточной экспрессии генов, ассоциированных со временем колошения на материале почти изогенных линий и их родительских сортов;
5. Анализ возможных межгенных взаимодействий, происходящих при участии *Ppd-B1a* и генов, выявленных на хромосоме 5В.

Научная новизна работы

В ходе данной работы проведена идентификация локусов, ассоциированных с временем колошения, на хромосомах 2 и 5 В-генома мягкой пшеницы. Показано, что причиной различия почти изогенных линий по времени колошения является область на коротком плече хромосомы 2В между маркерами *Xgwm148* и *Xgwm388*. В данной области располагается ген *PPD-B1*. Анализ последовательности данного гена позволил выявить инсерцию/делецию и несколько SNP, отличающих исследуемый аллель от других доминантных *Ppd-B1a* аллелей, в том числе, с увеличенным числом копий гена, и от рецессивных аллелей *Ppd-B1b* в сестринских линиях. Показано, что причиной раннего колошения линий является увеличение числа копий данного гена. В результате биоинформатического анализа промоторов генов *PPD-1* выявлены специфичные для *PPD-B1* транскрипционные факторы, среди которых гены *MADS-box* являются наиболее вероятными, специфичными для *PPD-B1*, регуляторами экспрессии. Таким образом, впервые предложен механизм модуляции экспрессии аллеля *Ppd-B1a* с увеличенным числом копий гена.

Анализ популяции рекомбинантных инбредных хромосомных линий методом высокопроизводительного генотипирования с последующим QTL-анализом,

позволил выявить локус в прицентромерной области хромосомы 5В, ассоциированный с изменением времени колошения. В результате сравнения последовательностей SNP из данного локуса с кодирующими последовательностями риса, брахиподиума, ячменя, пшеницы урарту, эгилопса и мягкой пшеницы из баз данных, были выявлены гены, ассоциированные с маркерами из исследуемого локуса. Проанализированы консервативные домены этих генов с использованием ресурсов базы данных UniProt и впервые предложены гены – кандидаты для данного локуса, *WRKY*, *ERF/AP2*, *FHY3/FAR1* и *ELF4*, которые могут быть ассоциированы с различиями по времени колошения. Ранее было показано, что эти гены (*WRKY*, *ERF/AP2*, *FHY3/FAR1* и *ELF4*) участвуют в регуляции времени цветения у многих растений, но данных об их участии в модуляции цветения пшеницы пока не было.

Для анализа взаимодействия генов, контролирующих время колошения, с использованием модели почти изогенных линий и их родительских форм, был проведен анализ паттернов суточной экспрессии генов *PPD-1* вместе с генами, вовлеченными в восприятие света (*PHYA*, *PHYB*, *PHYC*), и переход к цветению (*VRN-1*, *TaFT1*) и рассмотрены их взаимодействия. По результатам осуществленных в данной работе анализа корреляций паттернов экспрессии, и анализа промоторов *in silico*, впервые сделано предположение о возможном позитивном влиянии нечувствительного к фотопериоду *Ppd-B1a* на экспрессию *PHYC* в ночное время. Эту гипотезу подтверждают данные об увеличении количества белка фитохрома у линий с доминантными *PPD-1* аллелями (Кошкин и др., 2004). Также было сделано предположение, что транскрипционный фактор *FHY3/FAR1*, локализованный в прицентромерной части хромосомы 5В, может быть вовлечен во взаимодействие данных генов.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Полученные результаты могут быть использованы в дальнейшем для фундаментальных исследований, направленных на изучение взаимодействия генов, участвующих в формировании времени цветения мягкой пшеницы. Так, в ходе работы выявлены транскрипционные факторы, дополняющие известные механизмы цветения пшениц, установлены новые взаимодействия генов, всесторонне изучена

структурно-функциональная организация одного из основных генов, контролирующих цветение, *PPD-B1*.

Полученные результаты имеют практическое значение: изученные линии *Rpd-m* и *Rpd-w* являются донорами доминантного аллеля гена *PPD-B1* для создания сортов с ранним колошением, хорошо адаптированных к широкому спектру климатических условий. Знания о новом локусе на хромосоме 5В также могут быть применены для направленной селекции высокоадаптивных сортов мягкой пшеницы.

Положения, выносимые на защиту

- 1) Локусы на хромосомах В-генома мягкой пшеницы, связанные с индукцией колошения, расположены на коротком плече хромосомы 2В и в прицентромерной области хромосомы 5В.
- 2) Локус на коротком плече хромосомы 2В содержит аллель *Ppd-B1a^{cnv}*, увеличенное число копий которого положительно влияет на время колошения.
- 3) Локус в прицентромерной области хромосомы 5В включает в себя гены *WRKY*, *ERF/AP2*, *FHY3/FAR1* и *ELF4* – регуляторы времени цветения, описанные для модельных объектов.
- 4) Аллель *Ppd-B1a^{cnv}* детерминирует нечувствительность к фотопериоду и в ночной период положительно регулирует экспрессию *PHYC*, гена рецептора красного света.

Личный вклад автора

Личный вклад автора заключается в выполнении основного объема теоретических и экспериментальных исследований по теме данной работы, включая обширный анализ литературных источников, планирование и осуществление экспериментальных работ, фенотипирование растений, анализ и обработку полученных данных.

SSR-анализ почти изогенных линий был осуществлен совместно с Потокиной Е.К., Эгги Э.Э. и Ситниковым М.Н. Фенотипический анализ RICL линий проведен совместно с Леоновой И.Н.

Структура и объем работы

Диссертация состоит из оглавления, списка сокращений, введения, обзора литературы, описания используемых материалов и методов, результатов, обсуждения, заключения, выводов, списка цитируемой литературы и приложений. Работа изложена на 160 страницах печатного текста, содержит 31 рисунок и 4 таблицы, 6 приложений.

Благодарности

Автор искренне благодарит научного руководителя д.б.н. проф. Салину Елену Артемовну. Автор выражает благодарность сотрудникам ВИР им. Вавилова д.б.н. Потокиной Елене Кирилловне, а также проф. Кошкину В. А. за предоставление материала и Эгги Э. Э. за помощь в SSR-генотипировании. Автор благодарит проф. А. Короля (Институт Эволюции, университет Хайфы) за помощь в освоении программ для генетического картирования. Автор благодарит сотрудников лаборатории молекулярной генетики и цитогенетики растений к.б.н. Щербаня А. Б. за ценные рекомендации и помощь в освоении методов, д.б.н. Леонову И. Н. за помощь в фенотипическом анализе растений, лаборантов Урбах В. Г. и Бакланову М. В. за помощь при культивировании растений. Автор также благодарит сотрудников ЦКП «Лаборатория искусственного выращивания растений» и ЦКП «Геномика». Работа выполнена при поддержке фонда РНФ (грант № 14-14-00161).

Апробация работы

Работа была представлена на российских и международных научных конференциях: Научная конференция аспирантов и молодых ученых «Актуальность наследия Н.И.Вавилова для развития биологических и сельскохозяйственных наук», 2012; The 2nd International Conference «Plant Genetics, Genomics, and Biotechnology», 2012; III Вавиловская международная конференция «Идеи Н.И. Вавилова в современном мире», 2012; International Conference «Plant Genetics and Breeding Technologies», 2013; The 3rd International Conference «Plant Genetics, Genomics, and Biotechnology», 2015; Plant and Animal genome Asia, 2015; Plant Biology Europe EPSO/FESPB 2016 Congress, 2016; The Tenth International Conference On Bioinformatics Of Genome Regulation And Structure/Systems Biology, 2016;

Всероссийская конференция с международным участием «50 лет ВОГиС: успехи и перспективы», 2016; 13th International Wheat Genetics Symposium, 2017; 4th International Scientific Conference "Plant Genetics, Genomics, Bioinformatics and Biotechnology", 2017; II Всероссийская конференция с международным участием "Высокопроизводительное секвенирование в геномике", 2017; Беляевские Чтения, Международная конференция, посвященная 100-летию со дня рождения академика АН СССР Д.К. Беляева, 2017.

Публикации

По теме диссертации было опубликовано 21 работа, в том числе 4 статьи в рецензируемых журналах из списка ВАК:

Публикации по теме работы в рецензируемых журналах:

1. **Киселева А.А.**, Егги Э.Э., Кошкин В.А., Ситников М.Н., Рёдер М., Салина Е.А., Потоккина Е.К. Выявление генетических детерминант, определяющих различие почти изогенных линий *Triticum aestivum* L. по фотопериодической чувствительности // Генетика, 2014, Т. 50, № 7, С. 802–813
Kiseleva A.A., Eggi E.E., Koshkin V.A., Sitnikov M.N., Röder M., Salina E.A., Potokina E.K. Detection of genetic determinants that define the difference of Near Isogenic *Triticum aestivum* L. Lines in photoperiod sensitivity // Russian Journal of Genetics, 2014, V. 50., №. 7, P. 701-711
2. **Kiseleva A.A.**, Shcherban A.B., Leonova I.N., Frenkel Z. and Salina E.A. Identification of new heading date determinants in wheat 5B chromosome // BMC Plant Biology, 2016, V. 16(Suppl 1), №. 8, P. 35-46
3. **Kiseleva A.A.**, Potokina E.K., Salina E.A. Features of *Ppd-B1* expression regulation and their impact on the flowering time of wheat near-isogenic lines // BMC Plant Biology, 2017, V.17(Suppl 1), №. 1, P. 172
4. **Киселёва А.А.**, Салина Е.А. Генетические механизмы формирования времени колошения мягкой пшеницы // Генетика, 2018, Т. 54, №. 3, С. 1-16

Тезисы конференций по теме работы:

1. **Киселёва А.А.** Конструирование праймеров для последующего секвенирования гена *Ppd-B1* у серии изогенных линий мягкой пшеницы // Научная конференция аспирантов и молодых ученых «Актуальность наследия Н.И.Вавилова для развития биологических и сельскохозяйственных наук», 2012, С.124

2. **Kiseleva A.A.**, Potokina E.K. Identification of photoperiod-insensitive *Ppd-B1* allele using near-isogenic lines of *Triticum aestivum* L. // The 2nd International Conference «Plant Genetics, Genomics, and Biotechnology», 2012, P.39
3. **Киселева А.А.**, Потоккина Е.К. Идентификация аллеля гена *Ppd-B1*, детерминирующего слабую фотопериодическую чувствительность у изогенных линий мягкой пшеницы // III Вавиловская международная конференция «Идеи Н.И. Вавилова в современном мире», 2012, С. 165
4. **Kiseleva A.**, Potokina E. Polymorphism of *Ppd-B1* locus in NILs that are different in their photoperiod sensitivity // International Conference «Plant Genetics and Breeding Technologies» Vienna, Austria, 2013, P. 35
5. **Kiseleva A.A.**, Potokina E.K., Salina E.A. Genetic determinants of photoperiod insensitivity on 2B chromosome of wheat near-isogenic lines // The 3rd International Conference «Plant Genetics, Genomics, and Biotechnology», 2015, P. 24
6. Salina E.A., Sergeeva E.M., Nesterov M.A., **Kiseleva A.A.**, Timonova E.M., Vasiliev G.V., Frenkel Z., Korol A., Safar J., Dolezel J., International Wheat Genomic Sequencing Consortium Synteny and physical map of the short arm of chromosome 5B of common wheat // The 3rd International Conference «Plant Genetics, Genomics, and Biotechnology», 2015, P. 47
7. Salina E.A., Sergeeva E.M., Nesterov M.A., **Kiseleva A.A.**, Frenkel Z., Korol A., Muterko A.F. , Mardanov A.V., Ravin N.V, Jacobs JJMR, International Wheat Genomic Sequencing Consortium Towards the Reference Sequence of Chromosome 5B of Bread Wheat *Triticum aestivum* // Plant and Animal genome Asia, 2015
8. **Kiseleva A.A.**, Shcherban A.B., Leonova I.N., Salina E.A. Novel candidate genes on wheat 5B chromosome for flowering time regulation // Plant Biology Europe EPSO/FESPB 2016 Congress, 2016, ID 921
9. **Kiseleva A.A.**, Salina E.A. Functional and structural characterisation of *Ppd-B1* photoperiod insensitive allele // The Tenth International Conference On Bioinformatics Of Genome Regulation And Structure/Systems Biology, 2016, P.129
10. **Киселёва А.А.**, Щербань А.Б., Леонова И.Н., Салина Е.А. Новый локус на 5В хромосоме, участвующий в регуляции времени колошения пшеницы // Всероссийская конференция с международным участием «50 лет ВОГиС: успехи и перспективы», 2016, С. 178
11. Salina E.A., **Kiseleva A.A.** Characterization of wheat photoperiod insensitive *Ppd-B1a* allele // 13th International Wheat Genetics Symposium 2017 (IWGS), 2017, P. 200
12. **Kiseleva A.A.**, Salina E.A. New aspects of wheat photoperiod insensitive *Ppd-B1* regulation and interactions // 4th International Scientific Conference "Plant Genetics, Genomics, Bioinformatics and Biotechnology" (PlantGen2017), 2017, P. 112

13. Salina E.A., Sergeeva E.M., Nesterov M.A., **Kiseleva A.A.**, Frenkel Z., Korol A., Muterko A.F., IWGSC. Comparative analysis of 5B chromosome rearrangements during wheat evolution based on physical mapping and sequencing data // II Всероссийская конференция с международным участием "Высокопроизводительное секвенирование в геномике", 2017, Р. 69
14. **Kiseleva A.A.**, Salina E.A. Features of *Ppd-B1* expression regulation and their impact on the flowering time of wheat near-isogenic lines // Беляевские Чтения, Международная конференция, посвященная 100-летию со дня рождения академика АН СССР Д.К. Беляева, 2017, С. 218
15. Salina E.A., Sergeeva E.M., Nesterov M.A., **Kiseleva A.**, Frenkel Z., Korol A., Muterko A.F., IWGSC. New insight on 5B wheat chromosome evolution based on interspecies physical and genetic mapping // Беляевские Чтения, Международная конференция, посвященная 100-летию со дня рождения академика АН СССР Д.К. Беляева, С.222

Прочее:

1. Лысенко Н.С., **Киселева А.А.**, Митрофанова О.П., Потокина Е.К. Каталог мировой коллекции ВИР (выпуск 815): мягкая пшеница. Молекулярное тестирование аллелей *VRN*- и *PPD*- генов у допущенных к использованию в Российской Федерации селекционных сортов. СПб.: ГНУ ВИР Россельхозакадемии, 2014.
2. Злотина М.М., **Киселева А.А.**, Потокина Е.К. Использование аллель-специфичных маркеров генов *Vrn* и *Ppd* для экспресс-диагностики фотопериодической чувствительности и потребности в яровизации мягкой пшеницы и ячменя. Методические указания. СПб.: ВИР, 2012.

Глава 1. Обзор литературы

1.1 Генетические механизмы инициации цветения у *A. thaliana*

Растительным организмам важно успеть сформировать семена при благоприятных условиях. Поэтому растения, ориентируясь на стимулы, получаемые из внешней среды и внутренние сигналы, способны переходить к генеративному развитию в наиболее подходящее для этого время. Время цветения – признак, который зависит от комплекса условий и внутри вида может варьировать в широком диапазоне.

Изучение молекулярных взаимодействий, лежащих в основе формирования времени цветения у таких видов, как пшеница (*Triticum aestivum* L.), обладающих сложно устроенными геномами значительных размеров, требует привлечения знаний о путях цветения у модельных объектов (Cockram et al., 2007). Генетические, эпигенетические и факторы окружающей среды, иницирующие переход растения от вегетативного развития к генеративному, лучше всего изучены на модельном растении арабидопсис (*Arabidopsis thaliana*) (Blümel et al., 2015). Арабидопсис является факультативным длиннодневным растением. Это означает, что растение зацветает значительно раньше в условиях длинного дня (16 часов светового периода).

Многие факторы, как внешние, так и внутренние, оказывают воздействие на переход растения к цветению. К основным внутренним факторам, следует отнести: циркадные ритмы (Fowler et al., 1999; Mizoguchi et al., 2005), общий автономный путь (Simpson, 2004; He, 2012; Kim & Sung, 2014), углеводный статус (Wahl et al., 2013), старение (Aukerman & Sakai, 2003; Chen, 2004; Jung et al., 2012), фитогормоны (D'Aloia et al., 2011; Porri et al., 2012). Основные экзогенные факторы, оказывающие влияние на переход к цветению: фотопериод (Johansson & Staiger, 2015; Song et al., 2015), яровизация (воздействие низких температур) (Michaels & Amasino, 1999; Sheldon et al., 1999; Sheldon et al., 2000) и температура окружающей среды (Lee et al., 2007; Posé et al., 2013; Thines et al., 2014). Общая схема, показывающая основных участников формирования времени цветения приведена на рис. 1.

Сигнальные пути, реагирующие на различные эндогенные и экзогенные факторы, сводятся к нескольким интегральным генам, инициирующим переход к цветению: *FT* (*FLOWERING LOCUS T*) и *SOC1* (*SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS 1*). Они активируют гены идентичности флоральных меристем *LFY* (*LEAFY*), *AP1* (*APETALA1*), *SEP3* (*SEPALLATA3*) и *FUL* (*FRUITFULL*), которые участвуют в формировании цветка.

Длина светового дня является важным фактором развития растений, необходимым для регуляции многих процессов, связанных с сезонными изменениями (Song et al., 2015). В зависимости от реакции на фотопериод различают три основные группы: растения длинного дня, переходящие к цветению при световом периоде более 16 часов (арабидопсис, пшеница, ячмень); растения короткого дня, переходящие к цветению при длине светового дня менее 10 часов

(рис, кукуруза); и нейтральнодневные растения (фасоль, аброния), на время цветения которых фотопериод не оказывает значимого влияния (Taiz & Zeiger, 2002).

Основным фактором, передающим сигнал о фотопериоде, является белок CONSTANS (CO) (рис. 1). Транскрипционный фактор CO является одним из наиболее важных активаторов гена *FT* (Song et al., 2012; Valverde et al., 2004). Ген *FT*, экспрессируясь, образует белок, который перемещается из листьев в апикальную меристему, связывается с FD (FLOWERING LOCUS D) и инициирует цветение.

Регуляция экспрессии CO. Циркадные ритмы и световой сигнальный путь регулируют время экспрессии CO и активность белка CO (Song et al., 2013). Основную роль в формировании паттерна экспрессии CO играют факторы *FKF1* (FLAVIN-BINDING, KELCH REPEAT, F-BOX 1), *GI* (GIGANTEA), и *CDFs* (CYCLING DOF FACTORS), которые, в свою очередь, регулируются циркадными ритмами (Imaizumi et al., 2005; Song et al., 2012).

В условиях длинного дня уровень экспрессии CO находится на минимальном уровне в утренний период, затем следует усиление экспрессии в дневное время после полудня до наступления пика в ночное время. Такой периодичный паттерн экспрессии CO регулируется транскрипционными репрессорами CDF (CDF1, CDF2, CDF3 и CDF5). Белок CDF1 напрямую связывается с промотором CO, подавляя его экспрессию и обеспечивая снижение уровня экспрессии в утренний период (Fornara et al., 2009; Imaizumi et al., 2005). Экспрессия *CDF1* находится под контролем циркадных ритмов. CCA1 и LHY индуцируют экспрессию *CDF1* на рассвете и в середине дня. PRR9, PRR7, и PRR5 подавляют экспрессию *CDF1*, *CDF2*, *CDF3*, и *CDF5* (Nakamichi et al., 2007).

Дневная экспрессия CO позитивно регулируется взаимодействующими FKF1 и GI (Sawa et al., 2007). В условиях длинного дня FKF1 взаимодействует с GI днем, и этот комплекс разрушает белки CDF, что приводит к снятию репрессоров с промотора CO. В условиях короткого дня пики экспрессии *FKF1* и *GI* не совпадают, и CDF подавляют экспрессию CO в течении всего дня (Sawa et al., 2007). ZTL и LKP2, взаимодействующие с FKF1 и GI, вовлечены в дестабилизацию белка CDF2 (Fornara et al., 2009). Как только репрессоры CDF оказываются удалены с промотора

комплексом FKF1-GI, транскрипционные факторы семейства bHLH, FBH1 (FLOWERING BHLH1), FBH2, FBH3 и FBH4, инициируют транскрипцию CO. Белки FBH связываются с E-box элементом в промоторе CO (Ito et al., 2012).

Другими важными регуляторами CO являются фоторецепторы. PHYB оказывает негативное воздействие как на экспрессию CO, так и на стабильность его белка (Halliday et al., 2003; Endo et al., 2013). PHYA, наоборот, стабилизирует белок CO, и, таким образом, позитивно влияет на цветение (Tepperman et al., 2001; Valverde et al., 2004).

Таким образом, можно сделать вывод, что на экспрессию гена CO влияет множество транскрипционных регуляторов, и стабильность белка CO также определяется большим количеством факторов. Тем не менее, основную роль в регуляции CO играют гены циркадных ритмов растений.

Циркадные ритмы. Центральный осциллятор арабидопсиса представляет собой несколько петель, функционирующих по принципу обратной связи (McClung, 2006) (рис. 2). Два близкородственных транскрипционных фактора LHY (LATE ELONGATED HYPOCOTYL) и CCA1 (CIRCADIAN CLOCK ASSOCIATED1) на пике своей экспрессии на рассвете подавляют экспрессию TOC1 (TIMING OF CAB EXPRESSION1)/PRR1 (PSEUDO-RESPONSE REGULATOR1), пик экспрессии которого приходится на вечернее время (Alabadí et al., 2001).

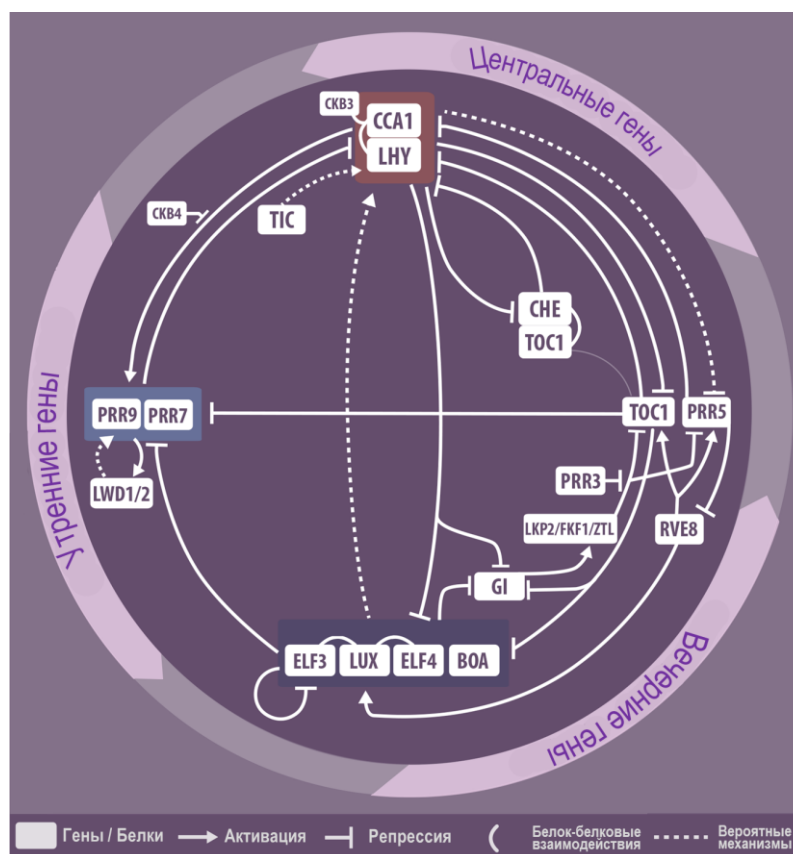


Рис. 2. Схематическое изображение основных компонентов циркадных ритмов арабидопсиса и их взаимодействий по (Bouché et al., 2016).

TOC1/PRR1 – один из основных генов семейства *PRRs*, пики экспрессии которых происходят с некоторой периодичностью в течении дня, начиная с *PRR9* и *PRR7* утром, далее – *PRR5*, и затем *TOC1* в вечернее время (Nakamichi et al., 2010; Matsushika et al., 2000). Псевдо-регуляторы ответа (*PRRs*), включая *TOC1*, последовательно подавляют экспрессию *CCA1* и *LHY* в течении дня (Nakamichi et al., 2010; Huang et al., 2012; Gendron et al., 2012).

Другим важным регуляторным элементом является вечерний комплекс (evening complex, EC), состоящий из *ELF3* (EARLY FLOWERING 3), *ELF4* и ДНК-связывающего фактора *LUX* (*LUX ARRHYTHMO*) (Dixon et al., 2011; Nusinow et al., 2011; Herrero et al., 2012). *CCA1* и *LHY* репрессируют вечерний комплекс генов (Lu et al., 2012), а вечерний комплекс, в свою очередь, подавляет *PRR9*, *PRR7*, *PRR5* и *TOC1*, и, как следствие, уменьшает репрессию *CCA1* и *LHY*.

ZEITLUPE (*ZTL*) участвует в формировании еще одной петли обратной связи (Rawat et al., 2011; Mas et al., 2003). *LWD1* (*LIGHT-REGULATED WD1*) и *LWD2* являются активаторами *PRR9*, *PRR7* и *PRR5* и тоже образуют петлю (Wang et al.,

2011). Утренние гены *LNK1* (*NIGHT LIGHT-INDUCIBLE AND CLOCK-REGULATED1*) и *LNK2*, индуцируемые красным светом, стимулируют экспрессию целой группы вечерних генов, включая *ELF4* и *PRR5*, находясь под репрессией псевдо-регуляторов ответа (PRRs), и формируя еще одну петлю отрицательной обратной связи (Rugnone et al., 2013). Кроме того, *LNK1* и *LNK2* взаимодействуя с *CCA1*, *LHY*, *RVE4*, и *RVE8*, функционируют в качестве коактиваторов транскрипции *PRR5* и *ELF4* (Xie et al., 2014).

Чтобы достичь синхронности с циклами смены дня и ночи, циркадные ритмы растения регулируются фоторецепторами красного/дальнего красного света фитохромами (PHYA – PHYE) и фоторецепторами синего света криптохромами (CRY1 и CRY2), и некоторыми другими белками, содержащими домены, восприимчивые к световому сигналу – *ZTL*, *FKF1* (FLAVIN-BINDING, KELCH REPEAT, F-BOX 1), и *LKP2* (LOV KELCH PROTEIN 2) (Fankhauser & Staiger, 2002).

Осцилляция белков циркадных ритмов, в свою очередь, контролирует многие биологические процессы, и отвечает за то, чтобы сезонные процессы, такие как переход к цветению, проходили в подходящее время (Johansson & Staiger, 2015).

1.1.2 Регуляция холодом (яровизация)

У многих растений в ходе эволюции выработались механизмы, определяющие потребность в продолжительном воздействии низкими температурами (яровизации) для последующего перехода к цветению. Это необходимо, чтобы растения переходили к генеративной стадии развития только в подходящее время года.

Ключевым геном, контролирующим потребность *A. thaliana* в яровизации, является *FLC* (*FLOWERING LOCUS C*), кодирующий транскрипционный фактор семейства MADS-box. *FLC* негативно влияет на транскрипцию *SOC1*, *FT*, *FD*, необходимых для инициации цветения (Jarillo & Piñeiro, 2011). У всех этих генов в промоторной области обнаружена CArG box-последовательность, ответственная за связывание с *FLC* (Alexandre & Hennig, 2008). После длительного воздействия холодом экспрессия *FLC* подавляется в результате эпигенетических перестроек. В основе этих эпигенетических механизмов находится несколько комплексов генов,

ответственных за негативную регуляцию экспрессии *FLC*: комплекс PRC2 (Polycomb repressive complex 2), вовлеченный в репрессирование путем триметилирования H3 гистона по 27 лизину (H3K27me3) и триметилирование H3 гистона по 9 лизину (H3K9me3) (Jiang et al., 2008), ген *VIN3* из этого комплекса вовлечен также в деацетилирование, вызванное яровизацией; комплекс PRC1-like участвует в распределении H3K27me3 (триметилирование H3 гистона по 27 лизину) и H3K9me3 (Bratzel et al., 2010); HDAC комплекс негативно регулирует метилирование H3K4 и деацетилирование гистонов (Yu et al., 2011).

Известны также комплексы генов, позитивно регулирующих *FLC*. В первую очередь, это группа генов, ассоциированных с *FRI* (*FRIGIDA*), и образующих *FRIGIDA*-комплекс. Этот комплекс генов участвует в привлечении активаторов транскрипции и триметилировании H3 гистона по 36 лизину (H3K36me3) (He, 2012). Другие комплексы, активирующие экспрессию *FLC*: COMPASS, RAD6-BRE1, PAF1, SWR1, FACT.

Гены, негативно влияющие на экспрессию *FLC*, активируются в результате длительного воздействия пониженными температурами (Angel et al., 2011), а гены, активирующие *FLC*, наоборот, подавляются (Hu et al., 2014). Вследствие яровизации паттерны метилирования гистонов *FLC* изменяются, и эти эпигенетические изменения сохраняются, что позволяет растению летом переходить к цветению.

1.1.3 Регуляция температурой окружающей среды

Теплые погодные условия положительно влияют на переход арабидопсиса к цветению. Данный механизм ассоциирован с различными генами. Например, транскрипционные факторы PIF4 и PIF5 ускоряют цветение, положительно влияя на экспрессию *FT* (Thines et al., 2014). Другой ген, участвующий в инициации цветения, *FLM* (*FLOWERING LOCUS M*) по-разному сплайсируется в зависимости от температуры, и соответственно, по разному влияет на цветение (Posé et al., 2013). Известно также, что ген *SVP* (*SHORT VEGETATIVE PHASE*) принимает участие в регулировании цветения в ответ на температуру окружающей среды (Lee et al., 2007).

1.1.4 Общий автономный путь

Основными генами автономного пути считают *FCA* (*FLOWERING TIME CONTROL LOCUS A*), *FLD* (*FLOWERING LOCUS D*), *FY* (*FLOWERING LOCUS Y*), *FPA*, *LD* (*LUMINIDEPENDENS*), *FVE* (Simpson, 2002). Мутации по этим генам ассоциированы с поздним переходом к цветению в условия как длинного, так и короткого дня. Основным механизмом действия этих генов является регулирование экспрессии *FLC* независимо от пути яровизации (Simpson, 2002).

1.1.5 Стадия развития растения

Чтобы инициировать цветение, растению необходимо перейти из ювенильной во взрослую стадию развития. Этот переход определяется, в основном, возрастом. Этот путь регулируется, главным образом, микроРНК *miR156*, целевым геном которого является транскрипционный фактор *SQUAMOSA PROMOTER BINDING-LIKE* (*SPL*), отвечающий за инициацию цветения в условиях неиндуктивного фотопериода (Wang, 2014).

1.1.6 Углеводный статус

Накопление трегалозы-6-фосфат в тканях связано с активностью фотосинтетических процессов и отражает статус питания растения и его готовность к цветению. Было показано, что отсутствие гена синтеза данного вещества *TPS1* (*TREHALOSE-6-PHOSPHATE SYNTHASE 1*) у арабидопсиса обуславливает очень позднее цветение даже в индуктивных условиях (Wahl et al., 2013).

1.1.7 Гормональная регуляция времени цветения

Основными фитогормонами, влияющими на инициацию цветения, являются гиббереллины (ГА) и цитокинины (ЦК).

У арабидопсиса ГА является одним из основных факторов, определяющих переход к цветению в условиях неиндуктивного фотопериода (короткого светового дня). Так, мутанты по гену синтеза ГА вообще не переходят к цветению в условиях

короткого дня, в то время как экзогенная обработка гиббереллином растений арабидопсиса ускоряет цветение (Wilson et al., 1992). Было показано, что ГА может влиять как на транскрипцию *FT*, *TSF* (*TWIN SISTER OF FT*) (Galvão et al., 2012), и *SOC1* (Eriksson et al., 2006), так и напрямую на некоторые гены идентичности флоральных меристем, например, *LEAFY* (*LFY*) (Blázquez et al., 1997; Eriksson et al., 2006).

Цитокинин также может влиять на инициацию цветения. Было показано, что этот фитогормон может индуцировать транскрипцию *TSF* (рис. 1), тем самым положительно влияя на переход к цветению (D'Aloia et al., 2011).

Важно заметить, что путь регуляции времени цветения фитогормонами не универсален. Гиббереллин ускоряет цветение у многих растений длинного дня в условиях неиндуктивного фотопериода. А растения короткого дня, обработанные ГА и выращиваемые на длинном дне, никак не реагируют на это воздействие. Причем, некоторые растения реагируют на ГА противоположным образом – не переходят к цветению совсем (Mutasa-Göttgens & Hedden, 2009).

1.1.8 Заключение по главе 1.1

У арабидопсиса индукция цветения хорошо изучена на молекулярном уровне. Известны основные репрессоры и активаторы, ответственные за регуляцию суточных паттернов экспрессии ключевых регуляторов цветения – генов *CO* и *FT*. Показано, что эти факторы влияют не только на транскрипцию этих генов, инактивацию репрессоров этих генов, но и на структуру хроматина, стабильность белка. Важно заметить, что позитивная транскрипционная регуляция *FT* происходит при индуктивном фотопериоде (определенной длине дня). И, несмотря на то, что гены *CO* и *FT* консервативны у большинства растений как длинного дня так и короткого, молекулярные механизмы, регулирующие их активность и паттерны экспрессии могут отличаться.

1.2 Механизмы формирования времени колошения *Triticum aestivum*

У арабидопсиса основным регулятором фотопериодического ответа является ген *CONSTANS* (*CO*), регулирующий экспрессию *FT*. В отсутствии *PHYB* (в ночное время) белок *CO* накапливается, что позитивно влияет на переход к цветению. У злаковых, в том числе пшеницы, центральными регуляторами фотопериодического ответа являются гены *PPD-1*, а эффект *CONSTANS* проявляется только в отсутствии *PPD-1* (Alqudah et al., 2014; Yang et al., 2014).

Принято считать, что время колошения гексаплоидной пшеницы зависит, в основном, от трех генетических систем: гены *VRN-1*, определяющие потребность растения в яровизации; гены *PPD-1*, определяющие фотопериодическую чувствительность; и локусы *eps* (*earliness per se*), объясняющие различия во времени колошения при удовлетворенных потребностях в яровизации и фотопериоде (Worland, 1996).

На данный момент, кроме этих основных путей, также показана роль фитогормонов (гибберелинов) (Pearce et al., 2013), микроРНК (Pearce et al., 2016), и многих генов, ассоциированных со временем колошения, но которые сложно отнести к какой-либо из описанных систем. Например, гены *PHYC* (Chen et al., 2014) и *PHYB* (Pearce et al., 2016) кодируют рецепторы света, и регулируют, таким образом, остальные гены. А гены *TaFT-1* являются интеграторами сигналов путей яровизации, фотопериода и циркадных ритмов растений (Yan et al., 2006). Функции генов *VRN-1* не ограничиваются определением потребности в яровизации: экспрессируясь в апикальных меристемах, эти гены воспринимают сигнал от *TaFT-1* и инициируют гены идентичности флоральных меристем (Chen & Dubcovsky, 2012). Обобщенная схема путей определения времени колошения пшеницы представлена на рис. 3.

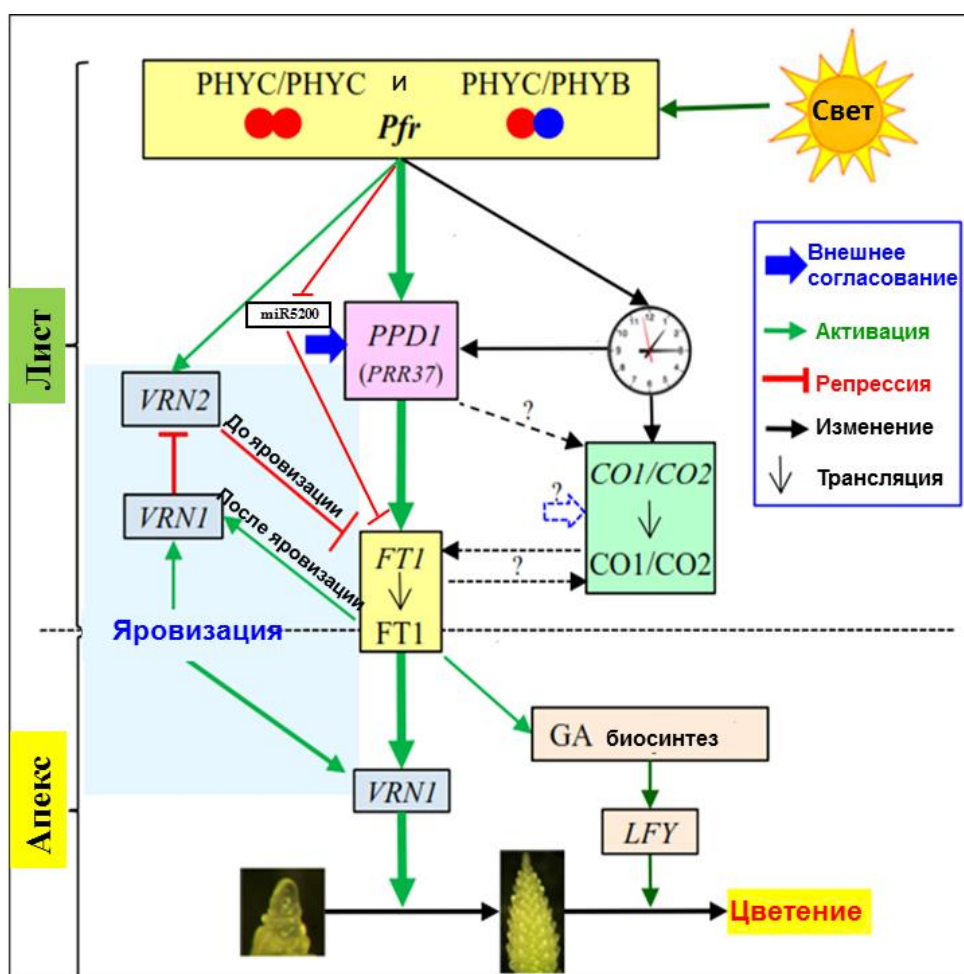


Рис. 3. Схема регуляции времени цветения пшеницы. Адаптировано по (Chen et al., 2014) с дополнениями из (Pearce et al., 2016).

Для более полного понимания механизмов, лежащих в основе определения времени цветения пшеницы, необходимо подробно рассмотреть компоненты этого пути.

1.2.1 Гены *VRN* определяют чувствительность к яровизации

Гены *VRN-1*, контролирующие потребность пшеницы в яровизации, были локализованы на 5 группе хромосом (Майстренко, 1973; Galiba et al., 1995; Law et al., 1976). Данные гены кодируют транскрипционные факторы MADS-box (Trevaskis et al., 2003; Trevaskis et al., 2007), высокоомологичные факторам APETALA-1, CAULIFLOWER и FRUITFUL (Kumar et al., 2012; Yan et al., 2003), которые у арабидопсиса регулируют переход от вегетативной фазы развития к генеративной (Ferrándiz et al., 2000). *VRN-1* необходим для закладки и поддержания флоральной меристемы на верхушке побега пшеницы (Trevaskis et al., 2003; Yan et al., 2003).

Было показано, что для перехода растения к цветению необходимо, чтобы уровень транскрипта *VRN-1* достиг определенного порогового значения (Loukoianov et al., 2005). Озимые сорта пшениц несут рецессивные аллели *vrn-1*, экспрессия которых блокирована до периода воздействия пониженных температур (яровизации). Яровые сорта характеризуются доминантными аллелями *Vrn-1*, которые экспрессируются конститутивно (Loukoianov et al., 2005). К яровому типу развития и отсутствию необходимости яровизации для перехода к цветению приводят мутации в любом из гомеологичных *VRN-1* генов (Greenup et al., 2009). Для каждого из доминантных *VRN-1* генов известны несколько мутантных аллелей, определяющих отсутствие потребности в яровизации (Yan et al., 2004; Fu et al., 2005; Shcherban et al., 2012). Комбинации этих аллелей могут приводить к различиям во времени цветения у яровых пшениц (Потокина et al., 2012).

Известна еще одна группа генов, ассоциированная с потребностью пшеницы в яровизации, – *VRN-2*. Эти гены были картированы у *T. monosocum* (*VRN-Am2*), и наличие рецессивного аллеля обуславливало отсутствие потребности в яровизации (Dubcovsky et al., 1998). При анализе механизмов компенсирующих потребность в яровизации у гексаплоидных пшениц нужно учитывать, что мутантные аллели *vrn-2* генов (определяющие отсутствие потребности в яровизации) являются рецессивными и необходимо, чтобы все три гомеологичных гена *VRN-2* были представлены мутантными формами. На данный момент у мягкой пшеницы не выявлены аллели генов *vrn-2*, которые могут модулировать потребность растения в яровизации и время перехода к цветению (Kippes et al., 2016). Тем не менее, искусственно полученные линии гексаплоидной пшеницы с тремя рецессивными мутантными генами *vrn-2* переходили к колошению на 100 дней раньше, чем линии хотя бы с одним интактным *Vrn-2*, обеспечивая, таким образом, развитие по яровому типу (Kippes et al., 2016).

Гены *VRN-2* – важные компоненты пути времени колошения, поскольку они являются репрессорами гена *TaFT1* (Yan et al., 2006; Hemming et al., 2008; Distelfeld et al., 2009) (рис. 4). Усиленная экспрессия *VRN-1*, обусловленная воздействием яровизирующих температур или мутациями в данном гене, приводит к подавлению *VRN-2*, что, в свою очередь, приводит к снятию репрессии с *TaFT1*. А усиление

экспрессии *TaFT1* дополнительно активирует *VRN-1*, что приводит к формированию петли положительной обратной связи (Loukoianov et al., 2005; Distelfeld et al., 2009; C. Li et al., 2011). Кроме того, на экспрессию *VRN-2* может влиять продолжительность фотопериода. Было показано, что для некоторых сортов пшеницы яровизация может быть замещена временным (до 6 недель) перемещением в условия короткого светового дня (Evans, 1987; Allard et al., 2012). Это явление связано с подавлением активности репрессора цветения, гена *VRN-2* (Dubcovsky et al., 2006).

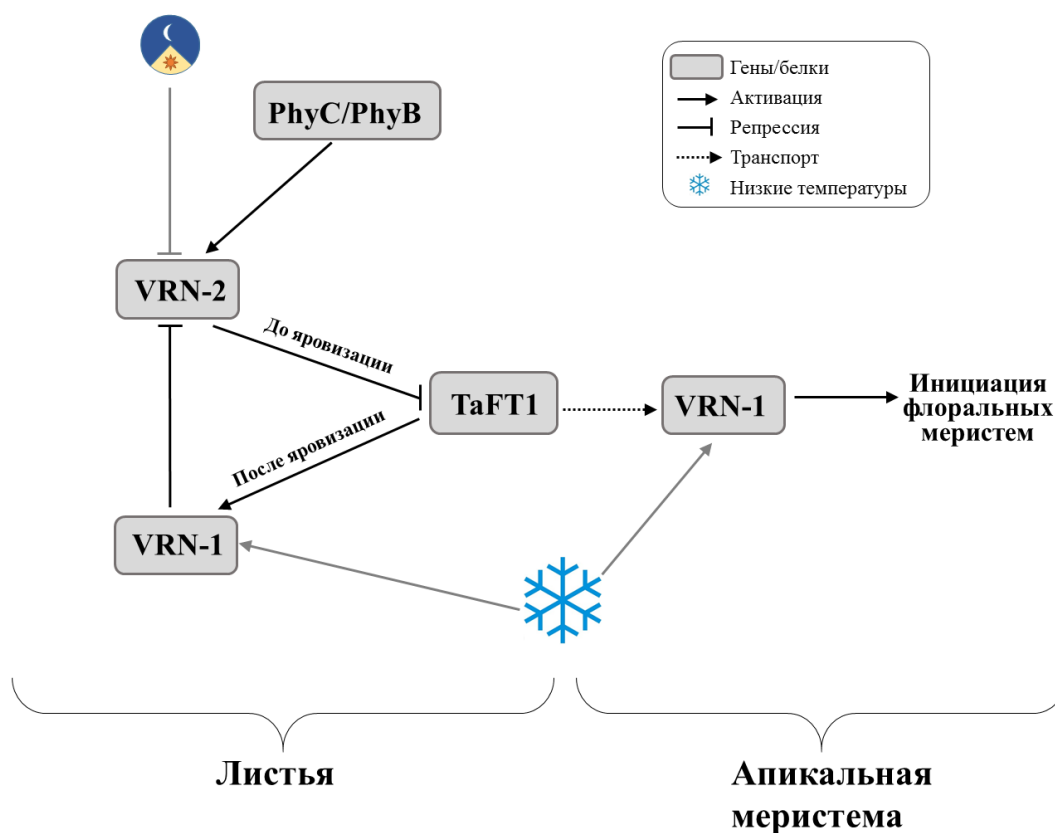


Рис. 4. Схема регуляции пути яровизации пшеницы. На рисунке представлены взаимодействия основных генов, участвующих в ответе на яровизацию.

Анализ промоторов *VRN* генов пшеницы показал, что они содержат консервативные цис-элементы, представляющие собой мишени для транскрипционных факторов, участвующих в ответе на яровизацию (рис. 5). Так, был выявлен сайт CArG (Yan et al., 2003), характерный для *VRN-1* генов, но не участвующий в ответе на яровизацию (Pidal et al., 2009), сайт *Vrn-box*, мутации в котором связаны с изменениями потребности яровизации и времени колошения (Muterko et al., 2016; Pidal et al., 2009), сайты связывания белков bZIP семейства (C-

box и G-box) (Li & Dubcovsky, 2008), сайт связывания комплекса NF-Y (CCAAT box) (Diallo et al., 2012), сайт связывания белка MyoD-like (Golovnina et al., 2010), а также сайт распознавания HMG1, возможного модулятора структуры хроматина (Golovnina et al., 2010; Diallo et al., 2012). В первом интроне были выявлены сайты связывания GRP2 (GLYCINE-RICH RNA-BINDING PROTEIN 2), репрессора *VRN-1* генов (Xiao et al., 2014). В процессе яровизации TaGRP2 подвергается модификации – присоединению N-ацетил-глюкозамина (O-GlcNAc), что приводит к уменьшению содержания его в ядре и диссоциации данного фактора с промотора *VRN-1* (Xiao et al., 2014; Kirpes et al., 2015). Были обнаружены также последовательности PRE/TRE – мишени для белков Polycomb и Trithorax, поддерживающих активацию или репрессию генов развития (Diallo et al., 2012; Sung & Amasino, 2006). Известно, что эти белки ассоциированы с регуляцией эпигенетических изменений, таких как триметилирование по 4 Лизину (H3K4me3) или триметилирование по 27 Лизину (H3K27me3) (Pien & Grossniklaus, 2007). Так, положительная регуляция экспрессии *VRN-1* ассоциирована, в том числе, с увеличением H3K4me3 при неизменном уровне H3K27me3 в промоторной области гена (Diallo et al., 2012).

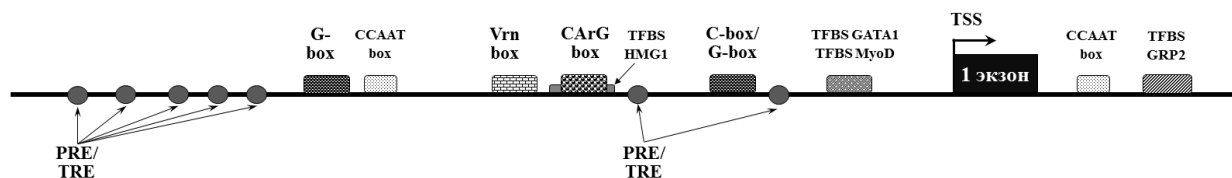


Рис. 5. Структура промоторной области гена *VRN-1*. TSS – сайт старта транскрипции. TFBS – сайты связывания транскрипционных факторов.

Таким образом, в основе чувствительности к яровизации пшеницы лежат механизмы, схожие с механизмами арабидопсиса, – эпигенетические изменения в промоторе генов. Однако, есть и отличия – у арабидопсиса регуляции подвержен ген *FLC*, а у пшеницы – *VRN-1*. *FLC* арабидопсиса опосредованно влияет на инициацию цветения через *SOC1* и *FT*, причем для активации цветения экспрессия *FLC* должна быть подавлена, в то время как у пшеницы яровизация активирует экспрессию гена *VRN-1*, что положительно влияет на время перехода к цветению (Yan et al., 2003; Oliver et al., 2009). Экспрессируясь в листьях, *VRN-1* выступает в качестве репрессора *VRN-2* (который репрессирует *TaFT1*), а экспрессируясь в апексе, *VRN-1* инициирует переход апикальной меристемы к генеративному этапу развития (Chen

& Dubcovsky, 2012) (рис. 4). Следует добавить, что хотя *VRN-1* вносят значительный вклад в формирование типа развития пшеницы (озимый – яровой) и времени колошения, существует точка зрения, что эти гены не являются необходимыми для перехода к репродуктивной фазе развития пшеницы (Chen & Dubcovsky, 2012). Так, у тетраплоидной пшеницы, мутантной по двум генам *VRN-1*, инициация цветения и формирование семян происходило без нарушений, хотя и с сильной задержкой (Chen & Dubcovsky, 2012). Возможно, сказывается компенсаторный эффект, и функции *VRN-1* могут быть частично скомпенсированы другими генами. Так, в геноме мягкой пшеницы был обнаружен ген *Vrn-D4*, представляющий собой паралог генов *VRN-1*, т.е. копию гена *Vrn-A1*, локализованную в другом месте генома, на хромосоме 5D (Yoshida et al., 2010).

1.2.2 Гены *PPD-1* определяют чувствительность к фотопериоду (длине дня)

Пшеница является растением длинного дня, т.е. она переходит к цветению, когда продолжительность светового периода превосходит критическое значение. У пшеницы отсутствует ювенильная стадия развития, когда растение нечувствительно к фотопериоду. На всех этапах развития, от всходов до колошения, пшеница восприимчива к длине дня (Slafer & Rawson, 1994). Как озимые, так и яровые сорта гексаплоидной мягкой пшеницы могут отличаться по чувствительности к фотопериоду. Сорта, отличающиеся по восприимчивости к длине дня, вплоть до полной нечувствительности, отбирались селекционерами на протяжении длительного времени, поскольку такие растения лучше адаптируются к условиям окружающей среды. Основные локусы, влияющие на чувствительность к фотопериоду, были картированы у пшеницы на второй группе хромосом (Scarth & Law, 1983). Гены *PPD-1*, расположенные в данных локусах, относятся к семейству PRR (Pseudo Response Regulator) (Beales et al., 2007).

Доминантные аллели генов семейства *PPD-1* снижают чувствительность растений к длине дня, обуславливая раннее колошение в условиях как короткого, так и длинного дня, обеспечивая, тем самым, преимущество растений с таким генотипом в конкретных условиях окружающей среды (Worland et al., 1998).

Идентифицированы последовательности генов *PPD-1* на всех хромосомах второй группы, и выявлены их доминантные аллели, обуславливающие нечувствительность к длине дня, причем, для одного гена может быть описано несколько доминантных аллелей, проявляющих свой эффект в разной степени. Большинство идентифицированных доминантных аллелей генов *PPD-1* пшеницы характеризуется делециями или инсерциями в промоторной области гена, где располагаются сайты связывания репрессоров, которые в результате мутации нарушаются, что ведет к значительному усилению экспрессии генов *PPD-1* (Nishida, Yoshida, et al., 2013).

Семейство генов *PPD-1* (*PHOTOPERIOD-1*) у мягкой пшеницы *T. aestivum* располагается на гомеологичных хромосомах 2A, 2B и 2D. Таким образом, эти последовательности принято обозначать *PPD-A1*, *PPD-B1* и *PPD-D1* в соответствии с их локализацией на одной из хромосом. Для обозначения доминантного аллеля, определяющего нечувствительность к фотопериоду и раннее колошение, принято добавлять суффикс «а» (*Ppd-A1a*, *Ppd-B1a* и *Ppd-D1a*). При обозначении рецессивных аллелей принято добавлять суффикс «b».

1.2.2.1 Аллельное разнообразие генов *PPD-1*

***PPD-D1*.** Первым из нечувствительных к фотопериоду аллелей генов *PPD-1* мягких пшениц был выявлен и описан доминантный аллель *Ppd-D1a* в работе (Beales et al., 2007). Нечувствительный к фотопериоду аллель *Ppd-D1a* широко используется в селекции пшениц, и его воздействие на фенотип было тщательно изучено (Worland & Snape, 2001).

Делеция длиной 2089 п.н. (рис. 6) присутствует в таких сортах мягких пшениц, как Суано 67, Sonora 64, Opata 85, для которых показано наличие аллеля *Ppd-D1a* и нечувствительность к длине дня (Hanosq et al., 2004). Аллель *Ppd-D1a* происходит из японского сорта Akakomugi, который в начале двадцатого века был завезен в Европу и использовался в качестве донора для селекции (цит. (Worland, 1999) по (Beales et al., 2007)).

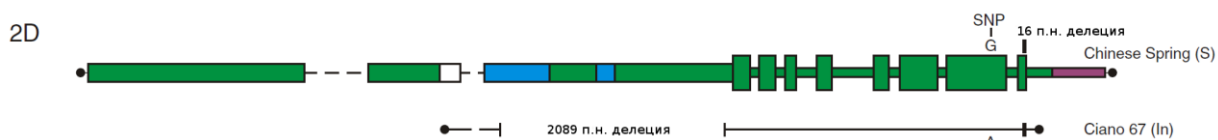


Рис. 6. Структура гена *PPD-D1* с обозначением области делеции по (Beales et al., 2007). Высокие прямоугольники обозначают экзоны.

Единственный описанный полиморфизм в D геноме, который ассоциирован с нечувствительностью к длине дня – делеция в промоторной области гена *Ppd-D1a*, но для данного гена описано и несколько других изменений последовательности. Так, в седьмом экзоне у сорта Chinese Spring обнаружен SNP, в результате которой аминокислота аланин замещается на треонин. Другой полиморфизм характерен для сорта Mercia, у которого первый интрон значительно увеличен из-за вставки транспозона типа MLE (mariner-like transposable element). Mercia в условиях короткого дня зацветает раньше чувствительных к фотопериоду сортов, хотя и позже нечувствительных. Но, несмотря на это, инсерция транспозона в первый интрон, по-видимому, не влияет на чувствительность к длине дня, поскольку такая же мутация характерна и для чувствительного к фотопериоду сорта Cappelle-Desprez. Третий полиморфизм, описанный для гена *PPD-D1* – 5 п.н. делеция в седьмом экзоне чувствительного к длине дня сорта Norstar. Благодаря этой делеции происходит сдвиг рамки считывания с образованием нового стоп-кодона ранее последовательности, кодирующей CCT-домен, в результате чего синтезируется нефункциональный белок (Beales et al., 2007).

Доминантный аллель *Ppd-D1a* в настоящее время широко используется в селекции (Seki et al., 2011). Так, по данным Guo et al. (2010), данный аллель обнаружен у 33% сортов мягкой пшеницы в Южной Америке, у 45.5 % сортов, возделываемых в Южной части Европы и у 8 % сортов в северной и западной частях Европы. Наибольшее распространение данный аллель получил в Азии – 57.4 % культивируемых в Китае сортов. Среди японских сортов 84 % являются носителями этого доминантного аллеля (Seki et al., 2011).

PPD-A1. Нечувствительные к длине дня аллели *Ppd-A1a* были выявлены сначала на материале твердой пшеницы *T. durum* (Wilhelm et al., 2009). Исследование локуса, содержащего ген PRR A-генома, позволило выявить несколько аллелей,

Было показано, что именно потеря района 900 п.н. в 5'-некодирующей области (5'-UTR) является причиной нейтрального к фотопериоду фенотипа. Сопоставление нуклеотидных последовательностей нечувствительных к фотопериоду аллелей *Ppd-A1a*, обнаруженных у сортов тетраплоидной пшеницы *T. durum* GS-100 и GS-105

показало, что данные аллели возникли независимо друг от друга. Растения, содержащие аллель *Ppd-A1a* как у сорта GS-105, зацветают на несколько дней раньше, чем носители аллеля сорта GS-100.

Позднее, Nishida et al. описали доминантный, определяющий нечувствительность к длине дня, аллель у *T. aestivum* (Nishida, Yoshida, et al., 2013). Данный аллель был обнаружен в японском озимом сорте Chihokukomugi, который возделывается на обширной территории в районе Хоккайдо. Сравнение нуклеотидных последовательностей аллелей *Ppd-A1a.1* (Chihokukomugi) и *Ppd-A1b.2* (Winter-Abukumawase) позволило установить их идентичность от стартового кодона до 3'-UTR (3'-нетранслируемого района). Для обеих последовательностей было характерно отсутствие инсерции транспозона (длиной 1200 п.н.) в область шестого интрона, как у ранее описанного аллеля *Ppd-A1b.1* сорта Chinese Spring.

Полиморфизм, обнаруженный в 5'-области, представляет собой крупную делецию длиной 1085 п.н. (рис. 7). Данная делеция фланкирована короткими 4-нуклеотидными повторами (GATT), что позволяет предположить, что новый аллель гена *Ppd-A1* образовался в результате негомологичной репарации после двунитевого разрыва (Nishida, Yoshida, et al., 2013). Все три крупные делеции в промоторной области гена *Ppd-A1*, обнаруженные у нечувствительных к фотопериоду сортов GS-100 и GS-105 *T. durum*, и у сорта Chihokukomugi мягкой пшеницы, перекрывают один и тот же район в области -1193 и -336 (рис. 7).

PPD-B1. Локализация локуса *Ppd2*, содержащего ген *PPD-B1*, на коротком плече хромосомы 2В была доказана еще в 1983 году (Scarth & Law, 1983). С использованием линий с частичными хромосомными делециями удалось установить точное место локализации данного гена (Goncharov & Watanabe, 2005). Полученные результаты согласовывались с проведенными ранее исследованиями, где возможная локализация гена *PPD-B1* была установлена с помощью методов молекулярного маркирования (Worland, 1996) (рис. 8).

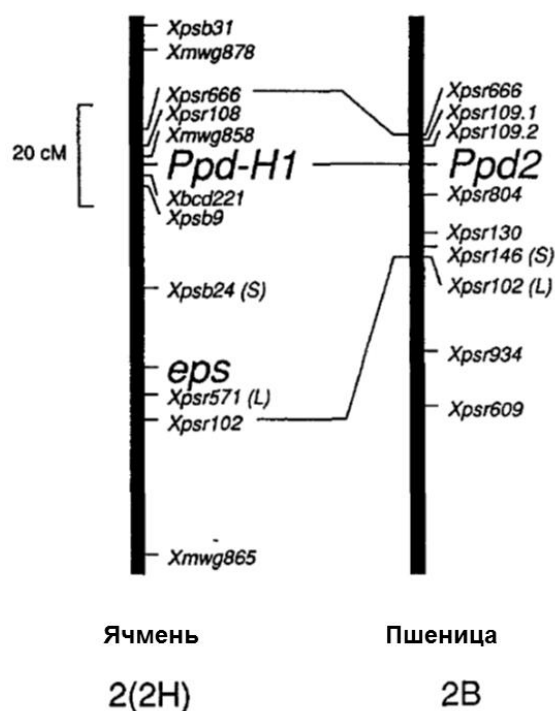


Рис. 8. Генетическая карта хромосом 2Н ячменя и 2В гексаплоидной пшеницы, на которой обозначено гомеологичное расположение некоторых RFLP локусов и генов *PPD-H1* и *PPD-B1*, контролирующих реакцию на фотопериод (по (Snape et al., 1996)).

В ходе изучения последовательности гена *PPD-B1* у сортов мягкой пшеницы, отличающихся по чувствительности к длине дня, были выявлены мутации в данном гене, таких как инсерция ретротранспозона и пять различных SNP (Beales et al., 2007). Но ни одно из обнаруженных изменений не было ассоциировано с чувствительностью к фотопериоду. В 2012 году появились первые сообщения о различных мутациях гена *PPD-B1*, которые могут обуславливать нечувствительный к длине дня фенотип (Díaz et al., 2012; Nishida, Yoshida, et al., 2013).

Ранее было показано, что для сорта Chinese Spring характерно наличие усеченной копии гена *PPD-B1* в дополнение к интактной. Установлено, что данная мутация не ассоциирована с нейтральнодневным фенотипом (Beales et al., 2007). Было сделано предположение, что на фенотип может оказывать влияние измененное число копий гена *PPD-B1* (Díaz et al., 2012). Для оценки числа копий был использован количественный ПЦР-анализ с использованием зонда TaqMan. В качестве внутреннего контроля использовали последовательность гена *CONSTANS2* (*TaCO2*, *TaHd1*), представленного в геноме единичной копией. У сортов с рецессивным аллелем *Ppd-B1b* гаплоидное число копий оказалось равным единице,

в то время как у сорта Chinese Spring было выявлено четыре копии гена *PPD-B1*. Более того, другие генотипы, несущие нейтральнодневный аллель *Ppd-B1a*, так же имели увеличенное число копий данного гена.

Например, для сорта Recital характерно наличие двух копий *PPD-B1*, для сортов Sonora 64, Timstein и C591 – по три копии (Díaz et al., 2012). Линия с замещенной хромосомой Mercia (Chinese Spring 2B), где хромосома 2B сорта Mercia замещена на 2B хромосому от сорта Chinese Spring (аллель *Ppd-B1a.2*) характеризуется таким же числом копий гена *PPD-B1*, что и Chinese Spring. И наоборот, линия, у которой хромосома 2B сорта Chinese Spring замещена на хромосому 2B чувствительного к фотопериоду сорта Marquis (аллель *Ppd-B1b*), содержит единичную копию гена (на гаплоидный геном), подтверждая таким образом, что все дополнительные копии *PPD-B1* гена расположены на 2B хромосоме. Исходя из этих данных, был сделан вывод, что аллель *Ppd-B1a*, детерминирующий нечувствительность к фотопериоду, может характеризоваться увеличенным числом копий гена *PPD-B1* (Díaz et al., 2012). Изменению числа копий подверглись последовательности *PPD-B1*, которые в состоянии дикого типа характеризуются единичной копией. Отсюда было сделано предположение, что аллели с измененным числом копий гена *PPD-B1* возникли в результате разрыва двойной цепи с последующей репарацией. Тщательное изучение ВАС клонов (Allouis et al., 2003), содержащих аллель *Ppd-B1a* Chinese Spring, показало, что для данного сорта характерны следующие особенности: гаплоидное число копий гена - четыре, причем одна из них усеченная (от начала 7 экзона), наличие точки разрыва между копиями (intercopy break point) и три SNP в последовательностях экзонов (рис. 9).

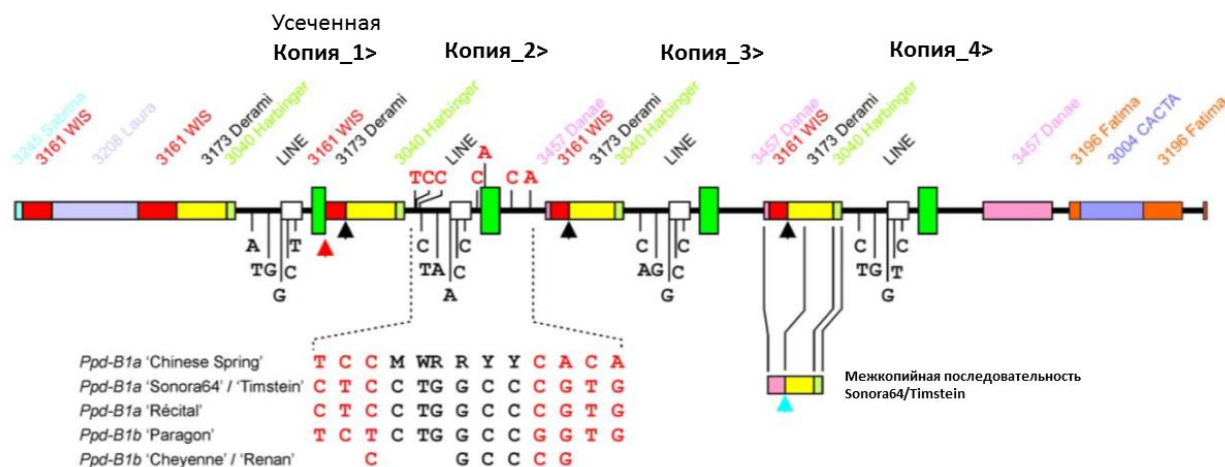


Рис. 9. Структура аллеля *Ppd-B1a* Chinese Spring по (Díaz et al., 2012). Копии генов *PPD-B1* (экзоны и интроны) представлены высокими зелеными прямоугольниками. Небольшие цветные прямоугольники обозначают различные транспозоны (названия приведены выше соответствующим цветом). Вертикальные стрелки указывают на стыки между интактными копиями (черные стрелки) или между транспозоном и усеченной копией в случае аллеля Chinese Spring (красная стрелка), голубая стрелка указывает на межкопийный стык у аллеля сортов Sonora 64, Timstein. Ниже представлены гаплотипы *PPD-B1* генов у различных сортов.

Исследование последовательностей между копиями генов *PPD-B1* позволило установить, что все они фланкированы ретротранспозонами. Было сделано предположение, что хромосома с двумя копиями гена появилась благодаря разрыву с последующей репарацией. Неравный кроссинговер, случившийся позднее, мог стать причиной формирования аллелей с тремя или четырьмя копиями гена, а частичная делеция одной из копий позволило образоваться структуре, характерной для *Ppd-B1a* аллеля у Chinese Spring (Díaz et al., 2012).

Впервые мутация в нуклеотидной последовательности гена *PPD-B1*, обуславливающая нечувствительный к фотопериоду фенотип, была описана Nishida et al. (Nishida, Yoshida, et al., 2013). Данный полиморфизм представляет собой инсерцию в 308 п.н., идентифицированную в промоторной области гена *Ppd-B1a* сорта Winter-Abukumawase, для которого помимо аллеля *Ppd-B1a*, характерно наличие аллеля *Ppd-D1a*, также обуславливающего нечувствительность к фотопериоду. Последовательность инсерции длиной 308 п.н. характеризуется наличием сайта целевой дупликации (ТТА) и терминальных инвертированных повторов длиной 21 п.н. с обоих концов. Структура данной последовательности позволяет предположить, что она представляет собой миниатюрный транспозон с

инвертированными повторами (MITE). В результате данной инсерции происходит разрыв регуляторной последовательности промоторной области (Nishida, Yoshida, et al., 2013).

1.2.2.2 Общие особенности аллелей *Ppd-1a*, детерминирующих раннее колошение, их связь с другими генами и влияние на фенотип

Большая часть нечувствительных к фотопериоду аллелей *Ppd-1a* характеризуется изменениями в промоторной области – делециями или инсерциями (рис. 10).

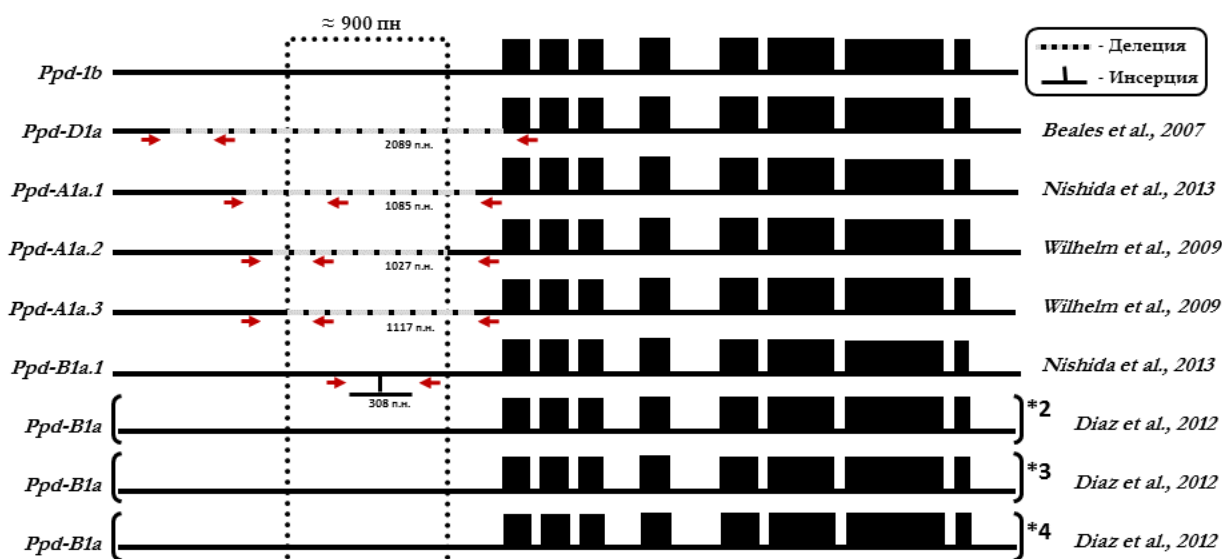


Рис. 10. Схематичное изображение аллелей *PPD-1* генов, обуславливающих нечувствительность к фотопериоду. Черные прямоугольники обозначают экзоны. Красные стрелки обозначают сайты связывания праймеров. Протяженность делеций или инсерций указана под соответствующим элементом.

Для всех аллелей *Ppd-1a*, обуславливающих нечувствительность к фотопериоду, характерно нарушение суточного паттерна экспрессии. В норме гены *PPD-1* экспрессируются в дневное время с пиком в районе 3-4 часов после начала светового периода, ночью экспрессия этих генов подавлена. Доминантные *Ppd-1a* аллели экспрессируются все время на протяжении суток – как днем, так и ночью (Shaw et al., 2012).

У нечувствительных к длине дня аллелей *Ppd-A1a* и *Ppd-D1a* делеции располагаются в промоторной области и перекрывают область протяженностью около 900 п.н. (рис. 10). Nishida et al. (Nishida, Yoshida, et al., 2013) предположил, что

в этом районе расположены регуляторные элементы, необходимые для правильной суточной экспрессии генов, и обнаружил следующие цис-мотивы: 1) G-box-коровая последовательность, которая опосредует светозависимый ответ; 2) родственный G-box Нех элемент, который располагается в промоторной области генов, зависимых от циркадных ритмов и экспрессируется с наступлением темноты; 3) консенсусная последовательность, которая часто обнаруживается рядом с Нех элементом, идентичная части коровой последовательности G-box; 4) два сайта связывания для транскрипционного репрессора CHE (CCA1 HIKING EXPEDITION), который подавляет экспрессию *LHY* и взаимодействует с TOC1; 5) и элемент, ассоциированный со специфичной утренней экспрессией. В случае аллеля *Ppd-B1a* с инсерцией в промоторной области, сайты связывания CHE оказываются разделенными. Таким образом, было сделано предположение, что именно эти сайты являются критичными для нормальной суточной экспрессии генов *PPD-1* (Nishida, Yoshida, et al., 2013).

Кроме вероятного репрессора, на экспрессию *PPD-1* генов влияют PHYВ и PHYС (Chen et al., 2014; Pearce et al., 2016), циркадные ритмы и внешние световые сигналы (Chen et al., 2014). Все растения с нечувствительными к фотопериоду аллелями *Ppd-1a* характеризовались также усилением экспрессии *TaFT1*, откуда был сделан вывод, что *PPD-1* регулируют экспрессию данного гена (Beales et al., 2007; Wilhelm et al., 2009; Shaw et al., 2012). Есть также данные, что помимо *TaFT1*, *PPD-1* гены могут влиять на экспрессию генов *CO1/CO2* (Shaw et al., 2013; Shaw et al., 2012), гомолог которых у арабидопсиса является результатом функционирования циркадных ритмов (Suárez-López et al., 2001). Но неизвестно, прямое это воздействие, или оно опосредовано другими участниками (например, в результате обратного воздействия *TaFT1*) (Chen et al., 2014).

1.2.3 Рецепторы света – фитохромы

Основными рецепторами красного света являются фитохромы. Было показано, что у пшеницы на время перехода к цветению влияют PHYС и PHYВ (Chen et al., 2014; Pearce et al., 2016). Эти белки функционируют в виде гомо- (PHYС/PHYС и

РНУВ/РНУВ) или гетеро- (РНУС/РНУВ) димеров, и, в зависимости от этого, могут регулировать различные гены.

Растения, мутантные по этим генам, переходят к цветению с задержкой более чем в 100 дней (Chen et al., 2014; Pearce et al., 2016), что свидетельствует о влиянии этих молекул на время колошения. В исследовании Pearce et al. методом высокопроизводительного секвенирования РНК (RNA-seq) было выявлено 82 гена, которые позитивно или негативно регулируются фитохромами РНУС/РНУВ, 2202 гена, регулируемых только РНУВ/РНУВ и 261 ген, регулируемый РНУС/РНУС (Pearce et al., 2016). Среди генов, на экспрессию которых влияют оба фитохрома, были такие важные участники времени цветения, как *PPD-1*, *FT1* и *VRN-1* гены. Кроме того, каждый из этих фоторецепторов влияет на ряд дополнительных генов, ассоциированных со временем цветения, и на синтез некоторых пре-микроРНК. Так, было установлено, что РНУС негативно регулирует miR5200, являющуюся репрессором *FT1* (Wu et al., 2013).

Таким образом, можно заключить, что фоторецепторы пшеницы РНУС и РНУВ в значительной степени влияют на определение времени колошения. Кроме того, важно заметить, что в отличие от арабидопсиса, у которого на переход к цветению положительно влияют РНУА и РНУВ, в то время как РНУС негативно влияет на данный процесс, у пшеницы функции этих молекул смещены - РНУС и РНУВ являются положительными регуляторами цветения, а про функции РНУА ничего не известно.

1.2.4 Гены циркадных ритмов пшеницы

С использованием биоинформатических подходов у пшеницы было обнаружено большое количество генов, гомологичных генам циркадных ритмов арабидопсиса (Peng et al., 2015). Однако экспериментально были выявлены и изучены лишь немногие.

Центральным геном арабидопсиса, передающим сигнал о фотопериоде, является *CONSTANS (CO)*, основную роль в регуляции которого играют гены циркадных ритмов. У пшеницы были обнаружены гомологи этого гена – *CO1* и *CO2*,

но влияние этих генов на время цветения до сих пор плохо изучено (Chen et al., 2014). Тем не менее, гомологи этого гена у риса (*hd1*) участвуют в фотопериодической регуляции *hd3 (FT)* (Takahashi et al., 2009). Так же и у ячменя, *HvCO1* положительно влияет на экспрессию *HvFT1*, а сверхэкспрессия *HvCO1* инициирует раннее цветение (Campoli, Drosse, et al., 2012). Было сделано предположение, что *CO1* и *CO2* гены пшеницы выполняют сходные функции – активируют экспрессию *TaFT1*. В то же время, *CO1/CO2* пшеницы не являются столь же важными регуляторами цветения, как их гомолог у арабидопсиса - эффект *CONSTANS* проявляется только в отсутствии генов *PPD-1*, которые считают основными активаторами фотопериодического цветения.

Ген *TaLHY (Late Elongated Hypocotyl)* был идентифицирован у пшеницы по гомологии с *BdLHY-like* геном *Brachypodium distachyon* и геном *HvLHY* ячменя (Zhang et al., 2015). Методом вирус-индуцированного сайленсинга было показано, что растения с выключенным *TaLHY* не могут перейти к колошению (Zhang et al., 2015). Суточный паттерн экспрессии данного гена сложно сравнивать с таковым у арабидопсиса или сопоставлять с паттернами экспрессии других генов циркадных ритмов пшеницы, поскольку представленные данные описывают экспрессию только в условиях индуктивного фотопериода (длинный день), и ген рассматривается в аспекте устойчивости к жёлтой ржавчине.

Другой ген циркадных ритмов, обнаруженный у мягкой пшеницы – *TaTOC1 (TIMING OF CAB EXPRESSION1)*. У арабидопсиса *TOC1(PRR1)* является одним из ключевых генов центрального осциллятора (Strayer et al., 2000). Вместе с *CCA1/LHY* формирует петлю обратной негативной связи, образующей центральный осциллятор (Alabadí et al., 2001). Было установлено, что *TaTOC1* демонстрирует суточный паттерн экспрессии с пиком в вечернее время (Zhao et al., 2016), что соответствует паттерну экспрессии гомологичного гена арабидопсиса (James et al., 2008). Мутантные растения пшеницы с выключенными методом РНК-интерференции генами *TaTOC1* переходили к цветению на 4 – 9 дней раньше растений с генами дикого типа в условиях как длинного так и короткого дня (Zhao et al., 2016). Пути дальнейшей передачи сигнала от *TaTOC1* еще не изучены, его мишени неизвестны.

TaPRR73 является паралогом основного гена фотопериодической чувствительности пшеницы – *PPD-1* (Higgins et al., 2010). Сверхэкспрессия данного гена у риса ускоряет колошение в условиях длинного дня, что связали с регулированием *OsGI* (Zhang et al., 2016). Кроме влияния на время колошения, *TaPRR73* ассоциирован с высотой растения (Zhang et al., 2016). Паттерн экспрессии *TaPRR73* напоминает паттерн экспрессии утренних генов циркадных ритмов арабидопсиса – пик экспрессии приходится на утро (3 часа после рассвета). На основании сравнения последовательностей и паттернов экспрессии было сделано предположение, что *TaPRR73* является ортологом утреннего гена циркадных ритмов арабидопсиса *AtPRR7* (Zhang et al., 2016; Calixto, 2013; Campoli, Shtaya, et al., 2012).

Другой ген циркадных ритмов, идентифицированный у пшеницы – *WPCL1*. У арабидопсиса *LUX/PCL1* (*LUX ARRHYTHMO/PHYTOCLOCK 1*) входит в состав так называемого «вечернего комплекса», функционирующего в циркадных часах (Nusinow et al., 2011). Изначально он был идентифицирован в качестве гена-кандидата для локуса *Eps-3Am* пшеницы однозернянки (Gawronski et al., 2014). Чуть позже *LUX/PCL1* был идентифицирован на материале мягкой пшеницы. Этот ген был описан в качестве репрессора *PPD-1* и *VRN-2*, то есть у тройных мутантов по данному гену наблюдали усиление экспрессии *PPD-1* и *VRN-2* генов и более раннее колошение (Mizuno et al., 2016). Возможно, этот эффект объясняется положительным влиянием *PPD-1* на экспрессию *VRN-2*, которое было показано ранее (Turner et al., 2013). Наиболее ярко эффект сокращения времени инициации цветения наблюдался у растений, у которых отсутствовал *VRN-2*.

Интересно, что у пшеницы был обнаружен еще один ген, входящий в состав «вечернего комплекса» – *ELF3* (*EARLY FLOWERING 3*). *ELF3* был обнаружен у *T. monosocum* в качестве гена-кандидата для локуса *Eps-Am1* (Alvarez et al., 2016). Было показано, что хотя никаких отличий в уровне экспрессии идентифицированный ген не проявлял, были выявлены изменения четырех аминокислот, и линии пшеницы с такими мутациями характеризовались измененными паттернами экспрессии генов *PIF-like*, *PPD-1* и *FT1* (Alvarez et al., 2016). По гомологии с последовательностями ячменя и риса, у *T. aestivum* также был идентифицирован *ELF3* (Zikhali et al., 2014). Гены были картированы на

гомеологичных хромосомах первой группы. Растения с доминантным аллелем *TaELF3-1DLa* позднее переходили к цветению, чем растения с нулевым аллелем этого гена (Wang et al., 2016). Было показано, что *TaELF3* негативно влияет на экспрессию *TaGI* (Zikhali et al., 2016), что соответствует функции гомологичного гена арабидопсиса (Yu et al., 2008).

TaGI1 (*GIGANTEA1*) пшеницы был клонирован и было показано, что этот ген находится под контролем циркадных ритмов (Xiang et al., 2005). Сверхэкспрессия гена *TaGI1* пшеницы у арабидопсиса положительно влияла на экспрессию *CO* и приводила к раннему цветению, что соответствовало фенотипическому проявлению мутации по гену *GI* арабидопсиса (Xiang et al., 2005). Авторы предположили, что *TaGI1* является гомологом *GI* арабидопсиса и выполняет у пшеницы сходные функции (Xiang et al., 2005).

Таким образом, хотя некоторые ключевые компоненты циркадных ритмов растений у мягкой пшеницы идентифицированы, известны паттерны их суточной экспрессии и показана их связь со временем колошения, данных о взаимодействии этих генов очень мало (рис. 11). Кроме того, остаются пробелы в изучении генов коровой петли – *CCA1*, генов утренней петли – *PRR7*, вечерней петли – *ELF4*, *BOA*, и других генов, регулирующих гены центрального осциллятора, которые не менее важны для формирования правильных паттернов суточной экспрессии – *CKB3* (Sugano et al., 1998), *CKB4* (Portolés & Más, 2007), *TIC* (Ding et al., 2007), *PRR3* (Para et al., 2007), *PRR5* (Nakamichi et al., 2010), *RVE8* (Rawat et al., 2011), *LKP2* (Takase et al., 2011), *FKF1* (Nelson et al., 2000), *ZTL* (Somers et al., 2004), *LWD1/2* (Wu et al., 2008).

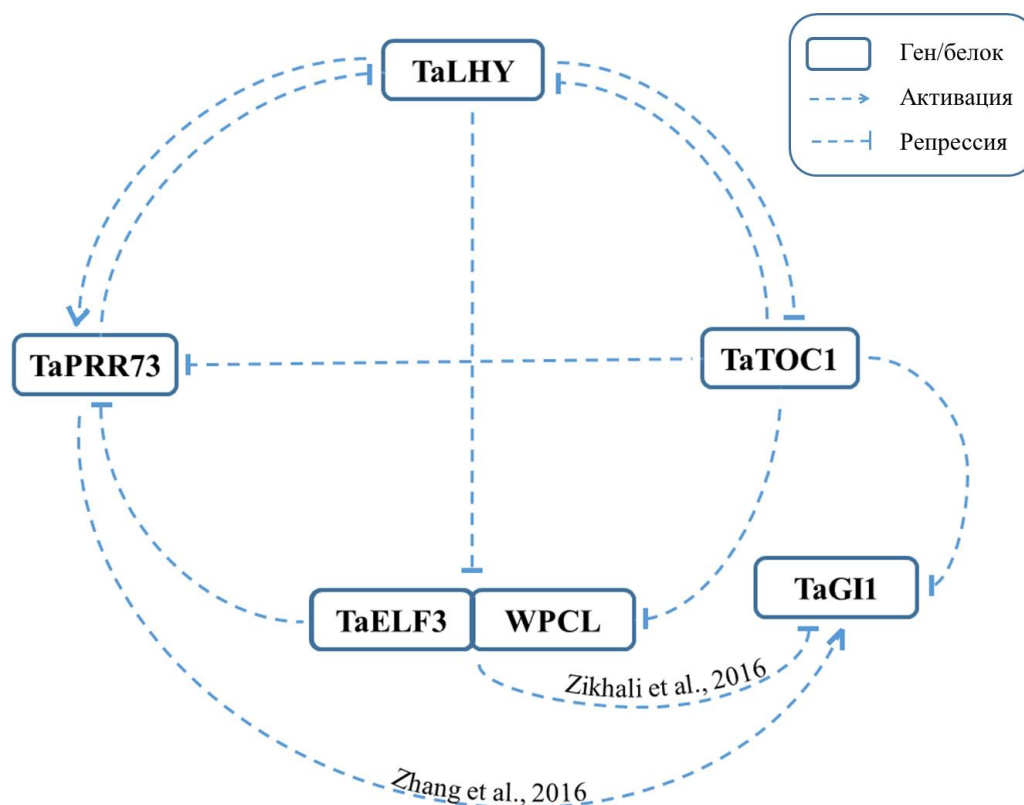


Рис. 11. Вероятная схема циркадных ритмов пшеницы. Представленные гены являются гомологами генов циркадных ритмов арабидопсиса. Пунктирные линии обозначают вероятные взаимодействия генов, предложенные на основании данных о взаимодействиях соответствующих генов арабидопсиса. Пунктирные линии со ссылками на статьи обозначают взаимосвязи, выявленные экспериментально, но нуждающиеся в дополнительной проверке.

1.2.5 Другие генетические локусы, ассоциированные со временем колошения пшеницы

На время колошения пшеницы могут влиять некоторые другие локусы. Так, в составленный (Miles et al., 2014) список локусов, ассоциированных со временем цветения, входит порядка 120 локусов, локализованных на каждой из хромосом пшеницы. В данный список входят локусы, идентифицированные до 2013 года. Локусы, ассоциированные со временем цветения пшеницы и выявленные в 2013 – 2017 годах, суммированы в приложении 2. Для большей части этих локусов неизвестны гены, лежащие в их основе.

Тем не менее, современные методы картирования с использованием маркеров, разработанных на основе кодирующих последовательностей предоставляют возможность идентифицировать гены-кандидаты, ассоциированные с QTL. Одним

из примеров такой работы может быть идентификация *hd6* на хромосоме 5В. На основании данных о синтении генома пшеницы с рисом и брахиподиумом, в качестве гена-кандидата для объяснения разницы по времени колошения был выявлен ген *hd6*, ассоциированный с маркером Kukri_c10016_369 (Zanke et al., 2014). У риса данный ген кодирует α субъединицу протеин-киназы СК2 (Casein Kinase 2), вовлеченную в трансдукцию светового сигнала, и влияющей на чувствительность к фотопериоду и время цветения (Takahashi et al., 2001).

1.2.6 Фитогормоны

У пшеницы, так же как у арабидопсиса и многих других растений длинного дня, фитогормоном, влияющим на время цветения является гиббереллин (ГА) (Suge & Yamada, 1965; Wilson et al., 1992). Было показано, что добавление экзогенного ГА ускоряет развитие колоса в условиях короткого дня, но только если экспрессируется *VRN-1* (Pearce et al., 2013). Присутствие ГА при экспрессирующемся *VRN-1* приводит к активации генов идентичности флоральных меристем *SOC1* и *LFY*, при том что при ингибировании биосинтеза ГА активации этих генов не происходит (Pearce et al., 2013). Влияние ГА на время цветения пшеницы подтверждается также тем, что у растений с усиленной экспрессией *FT1* гены биосинтеза этого фитогормона в апексе активируются даже на коротком фотопериоде. Была предложена модель, по которой синтезировавшийся в условиях длинного дня *FT1* транспортируется в апекс, где индуцирует экспрессию *VRN-1* и генов синтеза гиббереллина, что необходимо для активации генов флоральной меристемы *SOC1* и *LFY* (Pearce et al., 2013).

1.2.7 микроРНК

У пшеницы по гомологии с *Brachypodium distachyon* была обнаружена микроРНК miR5200, которая влияла на время цветения. У брахиподиума данная молекула экспрессируясь в листьях участвует в расщеплении *FT*. miR5200 экспрессируется в условиях короткого дня в большом количестве, а в условиях длинного фотопериода ее экспрессия подавлена (Wu et al., 2013). У пшеницы также была выявлена miR5200. Было показано, что данная молекула находится под

негативным контролем рецептора света РНУС, и, также как у брахиподиума, отрицательно влияет на *FT1* (Pearce et al., 2016).

Была идентифицирована еще одна микроРНК, *tae-miR408*, оказывающая влияние на время цветения (Zhao et al., 2016). Данная молекула негативно воздействует на экспрессию *TaTOC1*, гена циркадных ритмов, и усиливает экспрессию гена *TaFT1*, белок которого, транспортируясь в апикальную меристему, инициирует цветение (Zhao et al., 2016).

1.2.8 *TaFT1* – интегратор путей времени цветения

Ген *Vrn-3* мягкой пшеницы на хромосоме 7В, позже обозначенный как *TaFT1*, оказался гомологичен гену *Flowering Locus T (FT)* арабидопсиса (Yan et al., 2006). Так же как у арабидопсиса, этот ген является интегратором различных путей, участвующих в формировании времени колошения.

Основным регулятором экспрессии *TaFT1* являются гены *PPD-1*, доминантные аллели которых значительно усиливают экспрессию *TaFT1* даже в условиях неиндуктивного фотопериода (Beales et al., 2007; Wilhelm et al., 2009; Shaw et al., 2012). Также известно о роли пути яровизации в регуляции экспрессии этого гена – *Vrn-2* гены являются репрессорами *TaFT1* пшеницы (Dubcovsky et al., 2006). Некоторые гены циркадных ритмов, такие как *CO1/CO2* (Kitagawa et al., 2012), могут модулировать его активность. Кроме того, *miR5200* является негативным регулятором *TaFT1* (Pearce et al., 2016).

Ген *TaFT1* кодирует белок TaFT1, который транспортируется в апикальную меристему для инициации формирования флоральной меристемы. Недавно было показано, что TaFT1 пшеницы функционирует в качестве индуктора цветения не в одиночку, а в составе комплекса. Так, TaFT1 в цитоплазме объединяется с белками 14-3-3, перемещается в ядро, где взаимодействует с TaFDL2 (*Triticum aestivum* FLOWERING LOCUS D-LIKE 2) для образования «комплекса активации флоригена» (FAC) (Li et al., 2015). Данный комплекс может связываться с промоторами некоторых генов, таких как *VRN-1*, для регуляции их экспрессии (Li et al., 2015).

Известен мутантный аллель *TaFT1-B3a* (*Vrn-B3a*), обуславливающий раннее цветение. Для него характерна инсерция ретроэлемента протяженностью 5300 п.н. в промоторной области (Yan et al., 2006). Экспрессия такого гена усилена в результате нарушения регуляторной области гена. Аллель *TaFT1-B3c* (*Vrn-B3c*) содержит такую же инсерцию, что и *TaFT1-B3a*, и дополнительные делеции 4 п.н. (в ретроэлементе) и 20 п.н. (ранее ретроэлемента), его экспрессия несколько ниже, чем у *TaFT1-B3a* (Chen et al., 2013). Следует заметить, что такие аллели очень редко встречается у культивируемых сортов (Chen et al., 2013; Лысенко и др., 2014; Zhang et al., 2008; Iqbal et al., 2001). Другой аллель *TaFT1-B3b* (*Vrn-B3b*), содержащий инсерцию 890 п.н. в промоторной области, характеризуется значительным снижением экспрессии, и, таким образом, обуславливает задержку колошения (Chen et al., 2013).

Несмотря на значимость *TaFT1*, данный ген не является необходимым для перехода к колошению. Так, было показано, что растения тетраплоидной пшеницы, мутантные по генам *FT-A1* и *FT-B1*, и растения мягкой пшеницы, с выключенными методом РНК-интерференции тремя гомеологичными *TaFT1* генами, в условиях индуктивного фотопериода задерживаются в колошении всего на 2 – 4 недели (Lv et al., 2014). Вероятно, существует компенсаторный механизм, включающий родственные *TaFT1* гены, которые в его отсутствие выполняют функции флоригена.

1.2.9 Заключение по главе 1.2

Обобщая известную информацию о путях инициации цветения у пшеницы (рис. 12), можно сказать, что хотя многие гены времени цветения гомологичны генам арабидопсиса, а многие механизмы похожи, наблюдаются и значительные отличия на всех этапах этого пути, начиная с рецепции входящих сигналов и до активации генов флоральной меристемы. Как уже было отмечено, у пшеницы за восприятие светового сигнала и позитивную регуляцию цветения отвечают фитохромы PH_YB и PH_YC, а у арабидопсиса PH_YA и PH_YB. У арабидопсиса основным регулятором фотопериодического ответа является ген *CONSTANS* (*CO*), регулирующий экспрессию *FT* (An et al., 2004; Wenkel et al., 2006). В отсутствии PH_YB (в ночное время), белок *CO* накапливается, тем самым индуцируя цветение. В это же время у пшеницы центральными регуляторами фотопериодического ответа являются гены

PPD-1, а эффект *CONSTANS* проявляется только в отсутствии *PPD-1* (Alqudah et al., 2014; Yang et al., 2014). Гены *PPD-1* не являются генами циркадных ритмов, хотя некоторые компоненты этих ритмов могут оказывать влияние на экспрессию генов *PPD-1*. Циркадные ритмы и гены, находящиеся под их контролем, влияют на время цветения в значительно меньшей степени, чем у арабидопсиса. Механизмы яровизации очень схожи – в их основе лежит эпигенетическая модификация гистонов промоторной области регулируемого гена, но регулируемый ген разный – *FLC* у арабидопсиса (для перехода к цветению должен быть подавлен) и *VRN-1* у пшеницы (для перехода к цветению должен быть активирован). При этом *FLC* и *VRN-1* не гомологичны. Другие факторы, такие как фитогормоны и микроРНК, в последнее время идентифицированы и у пшеницы. Ключевым геном, интегрирующим сигналы от различных путей в обоих случаях является *FLOWERING LOCUS T (FT)*. Однако, у арабидопсиса *FT* передает сигнал генам идентичности флоральных меристем напрямую и при участии *SOC1*, а у пшеницы трансдукция сигнала от *FT* осуществляется через экспрессирующийся в апикальной меристеме *VRN-1*.

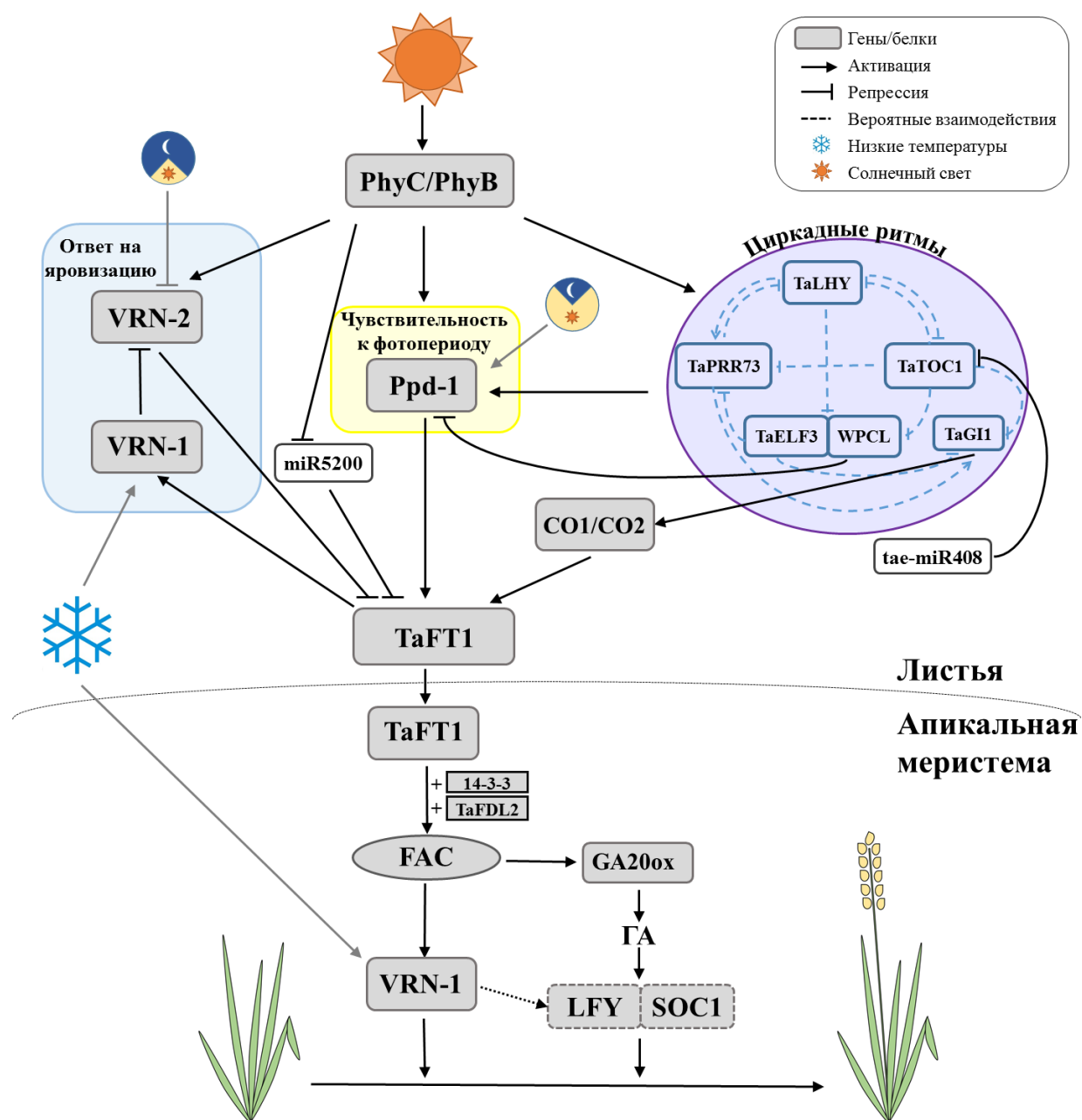


Рис. 12. Схема генетических взаимодействий, ведущих к инициации колошения пшеницы. Основные генетические взаимодействия, лежащие в основе формирования времени колошения. **Ответ на яровизацию:** воздействие низкими температурами приводит к усилению экспрессии гена *VRN-1* как в листьях, так и в апикальной меристеме. *VRN-1* в листьях подавляет экспрессию *VRN-2*, основного репрессора *TaFT1*. *TaFT1*, в свою очередь, положительно регулирует *VRN-1*, формируя петлю положительной обратной связи. Кроме того, *VRN-2* положительно регулируется рецепторами света фитохромами и негативно фотопериодом (подавление *VRN-2* на коротком дне). **Фотопериодическая чувствительность:** основным геном фотопериодического пути является *PPD-1*, индуцируемый длинным фотопериодом. *PPD-1* является основным активатором *TaFT1*. **Циркадные ритмы:** экспрессия генов циркадных ритмов регулируется, в основном, фитохромами и взаимодействиями друг с другом. Гены циркадных часов экспрессируются с определенной суточной периодичностью. У многих видов растений основным результатом функционирования циркадных часов является

регуляция экспрессии *CO*. Так и у пшеницы, *CO1/CO2* находятся под контролем *TaGI*. *CO1/CO2*, в свою очередь, положительно влияет на экспрессию *TaFT1*. Кроме того, ген вечернего комплекса *WPCL* негативно влияет на экспрессию *PPD-1* генов и *VRN-2*. **МикроРНК:** у пшеницы обнаружено, по крайней мере две молекулы данного типа, влияющих на время колошения, *miR5200*, негативно регулирующая *TaFT1*, и *tae-miR408*, подавляющая экспрессию *TaTOC1*. **Рецепторы света:** *PHYC* и *PHYB* в виде гомо- или гетеродимеров регулируют многие гены, влияющие на формирование времени колошения. Так, эти рецепторы активируют *PPD-1*, *VRN-2* и некоторые гены циркадных часов, такие как *CCA1* и *TaLHY*. *PHYC* также подавляет *miR5200*, являющегося репрессором *TaFT1*. **Фитогормоны:** в апексе *TaFT1* в составе флориген активирующего комплекса активирует гены биосинтеза гиббереллина (*GA20ox*). Присутствие ГА при экспрессирующемся *VRN-1* приводит к активации генов идентичности флоральных меристем *SOC1* и *LFY*. **Интеграция путей:** *TaFT1* является центральным регулятором времени колошения. Экспрессия данного гена находится под контролем генов ответа на яровизацию, чувствительности к фотопериоду, циркадных ритмов, некоторых микроРНК. Экспрессируясь в листьях, *TaFT1* транспортируется в апикальную меристему, где вместе с 14-3-3 белком и *TaFDL2* формирует флориген-активирующий комплекс (FAC), который активирует *VRN-1* и гены синтеза ГА. *VRN-1* и ГА в апексе индуцируют гены флоральных меристем, что инициирует переход к цветению.

Особенностью пути формирования времени цветения пшеницы является избыточность, вырожденность его компонентов. Даже выключение таких ключевых компонентов этого пути, таких как *PHYC* (Chen et al., 2014; Pearce et al., 2016), *PPD-1* (Shaw et al., 2013), *VRN-1* (Chen & Dubcovsky, 2012), *TaFT1* (Lv et al., 2014), хотя существенно задерживает колошение, но не приводят к полной неспособности к цветению. Вероятно, для пути времени колошения характерен компенсаторный эффект. Так, у пшеницы выявлено пять паралогов гена *TaFT1* (Lv et al., 2014). Возможно, эти гены могут частично выполнять функции *TaFT1* при его выключении.

Также стоит отметить многие факторы, такие как сахара, старение, автономные пути и температура окружающей среды, которые влияют на время цветения арабидопсиса (Wahl et al., 2013; Wang, 2014; Simpson, 2004; Lee et al., 2007) и некоторых злаковых (Takeda et al., 2001). Но механизмы их действия неизвестны у пшеницы. Многие гены, для которых показана связь со временем колошения пшеницы, к настоящему моменту описаны только в единичных публикациях, и требуется дополнительная верификация их участия в инициации колошения. Также довольно мало данных о взаимодействии генов колошения пшеницы, особенно о генах циркадных ритмов. Многие эксперименты по изучению экспрессии генов и их

взаимодействий с другими локусами, проводились на материале арабидопсиса или риса, а не пшеницы. При том что функционирование данных генов в пшенице может отличаться, как отличаются, например, механизмы фотопериодической чувствительности или ответа на яровизацию. Следовательно, с уверенностью говорить о функциях данных генов у пшеницы пока рано.

Таким образом, хотя многие аспекты формирования времени колошения пшеницы малоизучены и остается довольно много пробелов в понимании взаимодействий генов этого пути, с каждым годом количество информации по данной теме увеличивается, и можно надеяться, что вскоре механизмы формирования времени колошения пшеницы будут расшифрованы.

1.3 Гены В-генома мягкой пшеницы, ассоциированные с временем колошения

Говоря о генах, влияющих на время цветения пшеницы, важно заметить, что многие ключевые гомеологичные гены, хотя и располагаются на хромосомах А, В и D геномов, но экспрессируются с различной интенсивностью, и, следовательно, вносят различный вклад в формирование признака. Так, например, такие важные гены как *PPD-1* и *TaFT1*, *GI*, *CO2*, наиболее сильно экспрессируются именно в В-геноме (Shaw et al., 2012). Нечувствительные к фотопериоду аллели гена *Ppd-B1a* отличаются мутациями, нехарактерными для остальных генов *PPD-1* (изменение числа копий или инсерция), в то время как для *Ppd-A1a* и *Ppd-D1a* типичны делеции в промоторной области. Для большинства остальных генов времени цветения мягкой пшеницы экспрессивность гомеологов не была оценена, и, таким образом, говорить о степени их вклада в формирование фенотипа затруднительно. Кроме того, известно значительное количество локусов, в том числе на В-геноме, связанных со временем колошения, гены для которых не идентифицированы (приложение 2 и (Milec et al., 2014).

Есть предположение, что В-геном играет важную роль в адаптации к условиям окружающей среды (Nevo et al., 2002). В-геном более склонен к транслокациям и другим структурным изменениям (Akhunov et al., 2010; Badaeva et al., 2007), что может являться причиной его эволюционной лабильности.

Таким образом, исследование генов В-генома мягкой пшеницы, связанных с цветением, механизмов их регуляции и взаимодействий, представляет собой значительный интерес как с точки зрения изучения механизмов формирования данного признака, так и с сельскохозяйственной точки зрения – подбор и выведение сортов с подходящими локусами и генами, модулирующих время колошения.

Глава 2. Материалы и методы

2.1 Растительный материал и анализ фенотипа

2.1.1. Почти изогенные линии *Triticum aestivum* L.

В исследование были взяты различающиеся по времени колошения почти изогенные линий (NILs) яровой мягкой пшеницы, полученные от скрещивания рано переходящего к колошению сорта Sonora (K-47942) и линии ФЧЛ2 (K-142751), поздно переходящей к колошению и характеризующейся сильной чувствительностью к фотопериоду. Линии были получены во Всероссийском Научно-Исследовательском Институте Растениеводства им. Н.И. Вавилова (ВИР) (Мережко и др., 1997; Кошкин и др., 1998). Материал для исследования любезно предоставлен проф. В. А. Кошкиным.

Серии почти изогенных линий включают четыре линии, полученные в результате пяти беккроссов и 3-кратного индивидуального отбора. При создании линий предполагали, что они несут по одному доминантному гену *PPD-1*, соответственно – с умеренным (Ppd-m) и слабым эффектом (Ppd-w). Для каждой из них были отобраны также сестринские линии Ppd-0^m и Ppd-0^w, соответственно, несущие рецессивные аллели всех генов *PPD-1* («рецессивные сибь»).

Линии Ppd-m и Ppd-w переходили к колошению на коротком фотопериоде (12 час) по сравнению с длинным (18 час), на 9.5 (Ppd-m) и 13.5 (Ppd-w) раньше при среднем значении этого показателя у рецессивных сибов и реципиента – 27.3 сут и начинали колоситься раньше реципиента на коротком дне на 22.3 и 16.4 сут, соответственно (Киселева и др., 2014) (рис. 13).

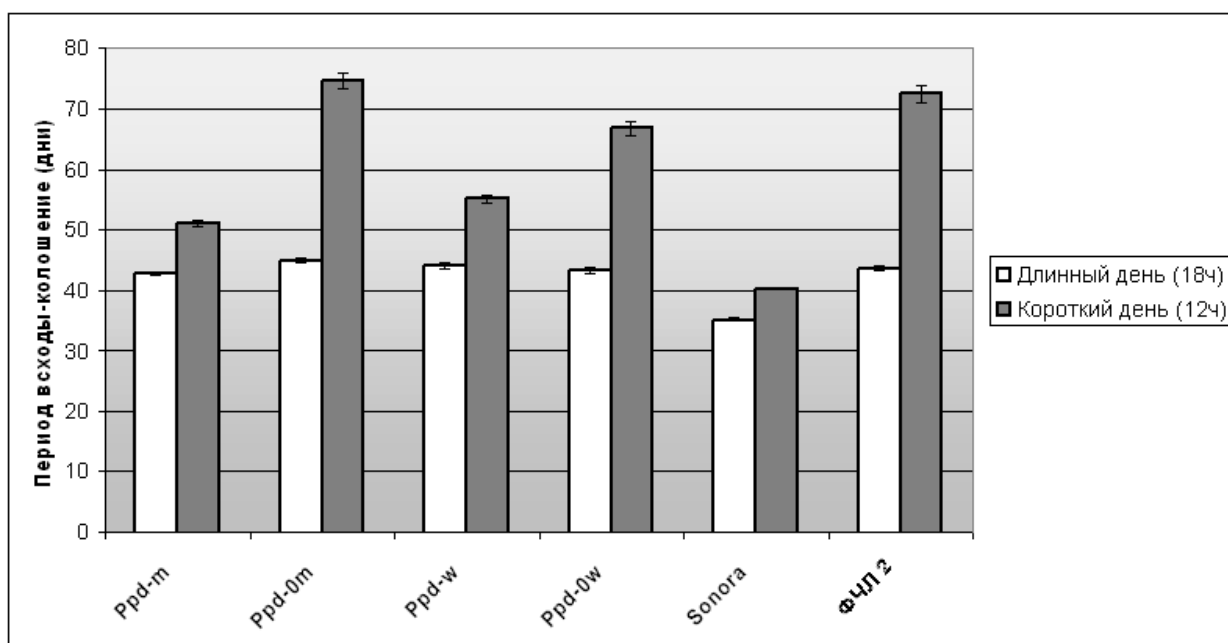


Рис. 13. Продолжительность периода всходы-колошение изогенных линий и их родительских форм в условиях длинного (18 ч) и короткого (12 ч) дня по усредненным данным за 2009 - 2011 года (Киселева и др., 2014).

2.1.2. Рекомбинантные инбредные хромосомные линии (RICL), полученные от скрещивания мягкой пшеницы сорта Chinese Spring (CS) и линии сорта Chinese Spring с замещенной хромосомой 5B на хромосому 5B *T. dicoccoides* (CS-5Bdic)

Сорт Chinese Spring (CS), замещенная линия сорта Chinese Spring с хромосомой 5B от *T. dicoccoides* (CS-5Bdic) и семена первого поколения от их скрещивания (F1) были любезно предоставлены проф. Гиллом (B. S. Gill; Kansas State University, USA) и Фарисом (J. D. Faris; USDA-ARS, Fargo, USA). Популяция, состоящая из 116 рекомбинантных инбредных хромосомных линий (хромосомно-замещенных рекомбинантных инбредных линий, RICL), была получена в результате 7 поколений самоопыления в лаборатории молекулярной генетики и цитогенетики растений (ИЦИГ СО РАН). Предполагается, что каждая из линий несет небольшие участки интрогрессии *T. dicoccoides* в хромосому 5B сорта CS.

Фенотипический анализ линий проводили в контролируемых условиях гидропонной теплицы ЦКП «Лаборатория искусственного выращивания растений» (ИЦИГ СО РАН). Проросшие семена яровизировали в течении 30 дней при +3 °C в темноте. Время колошения фиксировали для всех растений в момент выхода колоса

из трубки на 1/3 и высчитывали как продолжительность периода (количество дней) от всходов до момента колошения. Среднее значение времени колошения для каждой линии вычисляли по данным для 10 растений.

2.1.3. Анеуплоидные линии сорта Chinese Spring

Нулли-тетрасомные (N5BT5D), дителосомные (DT5BL) и линии с частичными хромосомными делециями использовали для уточнения локализации маркеров на хромосомах и проверки специфичности разработанных в ходе данной работы праймеров. Линии были любезно предоставлены проф. Гиллом (B. S. Gill; Kansas State University, USA).

2.2 Методы

2.2.1 Выделение ДНК из растений почти изогенных линий и их родительских сортов Sonora и ФЧЛ2

Проростки 10 зерновок (колеоптиле и первый лист) замораживали в жидком азоте, затем гомогенизировали с использованием вибрационной мельницы Retsch MM 400 в 1.5 мл центрифужных пробирках с 3 мелющими шарами диаметром 2 мм. Режим размалывания: 2 мин при частоте вибрации 30 колебаний в секунду. В каждую пробирку с замороженным гомогенизированным материалом добавляли по 700 мкл 2% СТАВ-буфера. Состав СТАВ-буфера: СТАВ (cetyl trimethyl ammonium bromide, $C_{10}H_{42}NBr$) – 2 % (w/v); EDTA (disodium salt, dihydrate $C_{10}H_{14}N_2O_8Na_2 \cdot 2H_2O$) - 20mM; Трис-HCl ($C_4H_{11}NO_3$), pH 8 - 0.1 M; хлорид натрия (NaCl), pH 8 – 1.4 M; polyvinylpyrrolidone (PVP40-50G) – 1% (w/v); 2-mercaptoethanol (добавляется перед использованием) – 0.2%). Гомогенат в пробирках тщательно перемешивали со СТАВ-буфером с использованием вортекса и инкубировали при 65° С не менее 1 часа в термошейкере. В каждую пробирку добавляли 700 мкл смеси хлороформ: изоамиловый спирт (24:1 vol:vol). Содержимое пробирок перемешивали в течение 5 минут, затем пробы центрифугировали 10 минут при скорости 12000 об/мин. Супернатант переносили в чистые пробирки, повторно добавляли по 700 мкл смеси хлороформ:изоамиловый спирт в каждую, с повторением перемешивания

(5 мин), центрифугирования (10 мин) и отбора супернатанта, содержащего ДНК, в чистые центрифужные пробирки.

ДНК осаждали изопропанолом (0.8 часть от отобранного объема верхней фазы). Затем плавно перемешивали. Для получения осадка ДНК пробирки центрифугировали 5 мин при скорости 12000 об/мин. Надосадочную жидкость сливали и осадок ДНК промывали 70% этанолом. Пробирки с осадком ДНК оставляли открытыми при комнатной температуре на 15-20 мин для испарения остатков этанола. Ресуспендирование осадка ДНК проводили в 50 мкл бидистиллированной деионизированной воды.

2.2.2 SSR-генотипирование

При генотипировании линий были проанализированы микросателлитные (SSR) локусы, опубликованные ранее (Roder et al., 1998; Song et al., 2005; Carollo et al., 2005). Используемый при анализе состав реакционной смеси и режим ПЦР полностью соответствовали рекомендациям оригинальных публикаций. Визуализацию и анализ амплифицированных фрагментов частично проводили с использованием секвенатора ALF (Automated Laser Fluorescence, Amersham) на базе лаборатории геномного картирования Института генетики культурных растений (Германия), частично с использованием автоматической станции капиллярного электрофореза высокого разрешения QIAxcel System Capillary Electrophoresis (Qiagen, Германия) в ВИР. Размер фрагментов в первом случае определяли с использованием компьютерной программы Fragment Analyzer 1.02 (Pharmacia, Швеция). При использовании QIAxcel длину фрагментов рассчитывали с помощью внутренних стандартов, в качестве которых были использованы маркеры соответствия (QX Alignment Marker 15bp/500bp), устанавливающие верхний (500 п.н.) и нижний (15 п.н.) пороги детекции. Одновременно использовался внутренний стандарт – набор фрагментов ДНК известного размера (QX Size Marker 25bp/500bp), различающихся по длине на 25 нуклеотидов. Часть маркеров была проанализирована с использованием электрофореза в агарозном геле (бромистый этидий в качестве красителя) с последующей детекцией в ультрафиолете.

2.2.3 Изучение аллельного состава генов *VRN-1* и *PPD-1* с использованием опубликованных аллель-специфичных праймеров

Для выявления возможного полиморфизма генов *VRN-A1*, *VRN-B1* и *VRN-D1* были использованы опубликованные ранее геноспецифичные маркеры (Yan et al., 2004; Fu et al., 2005), анализ производился по методикам, подробно описанным ранее (Потокина и др., 2012; Злотина и др., 2012).

Для выявления аллелей генов семейства *PPD-1*, которые могут детерминировать слабую чувствительность к фотопериоду, были использованы опубликованные ранее геноспецифичные праймеры (Beales et al., 2007; Wilhelm et al., 2009; Nishida, Yoshida, et al., 2013) (табл. 1).

Табл. 1. Последовательности праймеров, использованные для выявления доминантных аллелей генов семейства *PPD-1*, детерминирующих слабую фотопериодическую чувствительность. Сайты связывания данных праймеров отмечены на рис. 10.

Аллель	Название праймера	Последовательность	Длина фрагмента	Литературный источник
<i>Ppd-D1a.1</i>	Ppd1_F	ACGCCTCCCACTACACTG	288 (414*)	(Beales et al., 2007)
	Ppd1_R2	CACTGGTGGTAGCTGAGATT		
	Ppd1_R1	GTTGGTTCAAACAGAGAGC		
<i>Ppd-A1a.2</i>	durum_Ag5del_F1	GTATGCGATTTCGCCTGAAGT	173 (245*)	(Wilhelm et al., 2009)
	durum_Ag5del_F2	CGTCACCCATGCACTCTGTT		
	durum_Ag5del_R1	GAGCAAGGGATTGAGACTGC		
<i>Ppd-A1a.3</i>	durum_Ag5del_F1	GTATGCGATTTCGCCTGAAGT	290 (452*)	(Wilhelm et al., 2009)
	durum_Ag5del_F2	CGTCACCCATGCACTCTGTT		
	durum_Ag5del_R2	CTGGCTCCAAGAGGAAACAC		
<i>Ppd-A1a.1</i>	TaPpd-A1prodelF	CGTACTCCCTCCGTTTCTTT	338 (299*)	(Nishida, Yoshida, et al., 2013)
	TaPpd-A1prodelR3	AATTTACGGGGACCAAATACC		
	TaPpd-A1prodelR2	GTTGGGGTCGTTTGTTGGTG		
<i>Ppd-B1a.1</i>	TaPpd-B1proinF1	CAGCTCCTCCGTTTGCTTCC	620 (312*)	(Nishida, Yoshida, et al., 2013)
	TaPpd-B1proinR1	CAGAGGAGTAGTCCGCGTGT		

* - размер продукта в случае интактного (рецессивного) аллеля

Состав реакционной смеси был следующим: ДНК в концентрации 5 нг/мкл, 1× буфер для *Taq*-полимеразы (pH 8.6, 2.5 мМ Mg²⁺), 200–250 мкмоль dNTPs, по 0.2–0.25 мкмоль каждого из праймеров, 0.1 – 0.125 ед./мкл *Taq*-полимеразы (Dialat) и стерильная деионизированная вода до объема 20–25 мкл в зависимости от реакции. Условия проведения ПЦР для выявления аллелей *Ppd-1a* (за исключением аллеля *Ppd-B1a.1*): преденатурация при 94–96°C в течение 3 мин и далее 35–40 циклов (94–96°C в течение 20–30 с; 52–57°C в зависимости от структуры праймера в течение 20–30 с; 72°C в течение 40–60 с) и финальная элонгация при 72°C в течение 5 мин. Для

выявления аллеля *Ppd-B1a.1* использовали протокол “touch-down” ПЦР: преденатурация при 96°C в течение 3 мин, далее 11 циклов (96°C в течение 30 с; 70°C в течение 30 с с понижением температуры на 1°C в каждом последующем цикле; 72°C в течение 30 с), 29 циклов (96°C в течение 30 с; 60°C в течение 30 с; 72°C в течение 60 с) и финальная элонгация при 72°C в течение 5 мин. Более подробно данные методики описаны ранее (Beales et al., 2007; Wilhelm et al., 2009; Nishida et al., 2013).

2.2.4 Нарботка ПЦР-продуктов генов *PPD-1* и последующее лигирование в вектор

Для того, чтобы изучить все возможные изменения последовательностей были разработаны праймеры к кодирующей области, специфичные для всех генов *PPD-1*. Последовательности праймеров: F2-Ppd-exon2-ACCAGGCGTGGGCGTATCT; R2-Ppd-exon6-GCTCTAGCTGCCTGTTGGG; F3-Ppd-exon6-TGGAGATAGGTGCCCCTGG; R3-Ppd-3UTR-GGACCGTCTCTGAATGATCCA. Состав реакционной смеси был следующий: ДНК в концентрации 5 нг/мкл, 1×буфер для Taq полимеразы (pH 8.6, 2.5ммоль Mg²⁺), 200 мкмоль dNTPs, 0.2 мкмоль каждого праймера, 1 ед. Taq-полимеразы (Медиген) и стерильная деионизированная вода до объема 25 мкл. Условия реакции: 94°C – 3 мин, и затем 35 циклов (94°C – 40 сек; 55°C – 30 сек; 72°C – 60 сек) и 72°C в течение 7 мин. Праймеры к промоторной области были *PPD-B1* специфичными, поскольку промоторные области генов *PPD-1* значительно отличаются, и были сконструированы на основании выравнивания 184 последовательностей из баз данных NCBI. Последовательности праймеров: F-5UTR-CACTCTTATTCCTCTATGCC; R-5UTR-CTGTTATTATTGGAATCGTCAG. Полученные ампликоны были выделены из 1% агарозного геля и очищены с использованием «Набора для элюции ДНК из агарозного геля» (БиоСилика). Очищенные фрагменты лигировали в линейаризованный вектор pAL-TA (Evrogen). Состав смеси: 1×лигазный буфер, 50 нг вектора pAL-TA, 200 нг изучаемого фрагмента ДНК, 2 мкл PEG и 1 U T4-ДНК лигазы (Fermentas). Смесь инкубировали при 16°C в течение 12 часов.

2.2.5 Приготовление компетентных клеток и трансформация

Химически компетентные клетки получали с использованием протокола CCMB 80 (Hanahan et al., 1991). Состав CCMB 80 буфера: 10 mM KOAc, 80mM CaCl₂*2H₂O, 20mM MnCl₂*4H₂O, 10 mM MgCl₂*6H₂O, 10% глицерин, 0.1 N HCl для доведения pH до 6.4. Буфер фильтровали в стерильных условиях. Состав SOB буфера для культивирования клеток (на 400 мл): Бакто-триптон – 8 гр, бакто-дрожжевой экстракт – 2.2 гр, 5M NaCl – 0.8 мл, 1 M KCl – 4 мл, H₂O – 391 мл, данную смесь автоклавировали, охлаждали и добавляли 0.01V 2M Mg²⁺ (1M MgCl₂ + 1M MgSO₄). Последовательность действий: 1 мл ночной культуры *E. coli* (штамм TOP-10) добавляли к 250 мл SOB и инкубировали при 37°C до достижения плотности культуры OD₆₀₀=0.3. Центрифугировали 10 мин при 4°C, 3000 гpm, супернатант сливали. Осторожно ресуспендировали получившийся осадок в 80 мл охлажденного на льду CCMB 80 буфера. Инкубировали во льду 20 минут. Центрифугировали 10 мин при 4°C, 3000 гpm, супернатант сливали. Ресуспендировали в 10 мл охлажденного на льду CCMB 80 буфера. Инкубировали во льду 20 минут. Разливали аликвотами по 50 – 100 мкл в охлажденные 1.5 мл пробирки. Хранили при -80°C.

Трансформацию химически компетентных клеток осуществляли следующим образом: к аликвоте компетентных клеток добавляли 5 мкл лигазной смеси, ресуспендировали. Инкубировали на льду 30 минут. Для теплового шока пробирки помещали в термостат на 43°C на 30 сек. После чего сразу помещали на лед на 2 мин. Добавляли 1 мл LB (Триптон – 1 гр, дрожжевой экстракт – 0.5 гр, NaCl – 1 гр, H₂O – 100 мл). Инкубировали при 37°C в течение часа. Осаждали клетки центрифугированием, отбирали большую часть супернатанта, оставляя 100 мкл. Осадок ресуспендировали с остатками среды и высаживали на подготовленные чашки Петри с LB, содержащей ампициллин и X-Gal/IPTG (на одну чашку: 20 мл LB-агара, 40мкл 50 мг/мл ампициллина, 30 мкл 20 мг/мл X-Gal, 60 мкл 200 мг/мл IPTG).

2.2.6 Отбор колоний, содержащих целевые вставки, и выделение плазмидной ДНК

Колонии, содержащие вставку (белые), пересаживали на свежую среду с селективным антибиотиком (на одну чашку: LB-агар, 40мкл 50 мг/мл ампициллина). Далее их проверяли методом ПЦР с праймерами к целевой последовательности. Отобранные колонии пересаживали в стерильные пробирки с 50 мл LB и 20мкл 50 мг/мл ампициллина, выращивали в термошейкере в течение ночи до достижения культуры плотностью $OD_{600}=1.3-8$. Далее выделяли пДНК (плазмидная ДНК) с использованием «Набора для выделения плазмидной ДНК» (БиоСилика) согласно инструкции производителя. Оценивали качество и количество выделенной пДНК с помощью электрофореза в агарозном геле.

2.2.7 Секвенирование целевых последовательностей

Секвенирование осуществляли на приборе ABI 3130XL Genetic Analyser (Applied Biosystems). Реакцию проводили следующим образом: 1×буфер, 1.5 мкл BigDye Terminator v3.1, 5 пмоль праймера, 300 нг пДНК с целевой вставкой, деионизированная H_2O до объема 15 мкл. Условия прохождения реакции были следующие: 96°C – 1 мин, далее 25 циклов (96°C – 10 сек, 50/55°C – 5 сек, 60°C – 4 мин) на амплификаторе BioRad T100. Были использованы стандартные M13 праймеры и дополнительные олигонуклеотиды F-5UTRad-TTCTTCACACTAGGGCTGGT; R-5UTRad-CGCATAATAGCACAACCAGC; F-ex4-GTGGCAGTGGTAGTGGAAGT; F-7ex-ACGCCGCTCAGATGAAGCAA.

Полученные последовательности анализировали с использованием программ Chromas Lite и BioEdit (Hall, 1999).

2.2.8 Количественная ПЦР в реальном времени для определения копийности гена *PPD-B1*

ПЦР с детекцией в режиме реального времени проводили с помощью системы Bio-Rad-iCycler iQ (США) с использованием коммерческого набора детекции SYBR Green I (Синтол, Россия). Реакцию проводили в объеме 25 мкл, содержащем 1X

буфер для ПЦР, 100 мкмоль $MgCl_2$, 100 мкмоль dNTPs, 0.1 ед. *Taq*-полимеразы, 0.25 мкмоль каждого праймера, ДНК в концентрации 5 нг/мкл и 1xSYBR Green I. Амплификацию проводили согласно описанной методике [120], по следующей программе: преденатурация при 95°C в течение 15 минут, и далее 40 циклов (95°C в течение 15 сек, 60°C в течение 60 сек). Флуоресценцию интеркалирующего красителя SYBR Green I регистрировали в конце каждого цикла 60°C. Количественную оценку анализируемого гена проводили с помощью специализированной программы BioRad IQ5. Данные по количественной оценке анализируемого гена представлены в относительных единицах, рассчитанных при сравнении с копийностью референсного гена – *CONSTANS*, который представлен в геноме мягких гексаплоидных пшениц единичной копией. Для амплификации референсного гена использовали праймеры: CO2_Forw-TGCTAACCGTGTGGCATCAC; CO2_Rev-GGTACATAGTGCTGCTGCATCTG (ожидаемая длина фрагмента 120 п.н.). Праймеры, использованные для оценки копийности гена *PPD-B1*, имели следующую последовательность: PpdB_CNV_Forw-GCGTAAGTTACTATCTCTCATGGTGTATC; PpdB_CNV_Rev-TTTGTTTTAGTACCCAGTACCATACCAG (ожидаемая длина фрагмента 144 п.н.) (Díaz et al., 2012).

Оценка копийности гена *PPD-B1* проводилась методом по формуле $2\Delta C(t) = 2^{C(t)(\text{ген сравнения}) - C(t)(\text{ген интереса})}$ (Ермилова и др., 2010).

2.2.9 Анализ межкопийной области гена *PPD-B1*

Для определения типа межкопийной области гена *PPD-B1* использовали последовательности праймеров, опубликованные ранее (Díaz et al., 2012), и следуя описанной автором методике. Структура межкопийной области и сайты связывания праймеров приведены в приложении 1.

2.2.10 Биоинформатический анализ промоторов генов

Базу данных PlantPAN 2.0 (Chow et al., 2016), сочетающую в себе информацию таких баз данных, как PLACE, JASPAR, TRANSFAC, CIS-BP и других, использовали для выявления вероятных сайтов связывания регуляторных элементов. Были

проанализированы области протяженностью 2000 п.н. выше старта транскрипции, первый интрон и первый экзон генов. Для выявления транскрипционных факторов, общих для групп генов, использовали функцию анализа множества промоторов (multiple promoter analysis). Далее, транскрипционные факторы, ассоциированные с выявленными сайтами связывания, анализировали для выявления регуляторных элементов, связанных с переходом к цветению.

2.2.11 Анализ количественной экспрессии генов фотопериода в течение суток

Для изучения экспрессии генов, вовлеченных в определение времени колошения, были взяты растения рано переходящего к колошению родительского сорта Sonora с нечувствительным к фотопериоду аллелем *Ppd-B1a*, позднозацветающей родительской линии ФЧЛ2 и почти изогенные линии Ppd-m и Ppd-w, представляющие собой ФЧЛ2 с некоторыми интрогрессиями от сорта Sonora, в том числе *Ppd-B1a*. Растения выращивали в течении 21 дня после прорастания в сосудах с керамзитом в контролируемых условиях климатической камеры «Rubarth Apparate» (RUMED GmbH) в условиях короткого дня (9 часов света, 20° C). Верхушки листьев с трёх растений собирали и помещали в жидкий азот каждые три часа в течении 24 часов с момента включения света. РНК выделяли набором «Plant RNA MiniPrep» (Zymo Research) согласно инструкции производителя. ДНКазную обработку осуществляли в процессе выделения РНК с использованием набора «RNase-Free DNase set» (QIAGEN). Концентрацию и качество выделенной РНК определяли форежом в агарозном геле и измерением на NanoDrop 2000 (Thermo Scientific). Из 2 µg тотальной РНК в качестве матрицы синтезировали кДНК с помощью «RevertAid First Strand cDNA Synthesis» (Thermo Scientific) с использованием Oligo(dT)₁₈ в качестве праймеров. 2 µl 20-кратного разведения полученной кДНК использовали для последующего анализа. В работе использовали праймеры к следующим генам: *TaFT-1* и *PPD-A1*, *PPD-B1*, *PPD-D1* (Shaw et al., 2012), *VRN-1* (Shcherban et al., 2013), *PHYA*, *PHYB* и *PHYC* (Chen et al., 2014). Последовательности праймеров для *FHY3/FAR1*: F-TaFHY3/FAR1-5B-GCAAACGTCATCAGGATACA и R-TaFHY3/FAR1-5B-

ССТСТТСТCAGСТТТАСТТGC. Праймеры к 18S rRNA гену (Beales et al., 2007) использовали для нормирования. Данные по флуоресценции получали на приборе Applied Biosystems 7500fast с использованием SYBR Green I (Syntol) в качестве интеркалирующего красителя. Измерения проводили в трёх технических повторностях. Продукты реакции проверяли, анализируя кривую плавления и электрофорезом в 2% агарозном геле. Относительный уровень экспрессии рассчитывали по методу (Pfaffl, 2001). Эффективность реакций определяли с использованием программы LinReg (Ramakers et al., 2003).

2.2.12 Статистический анализ

При сравнении уровней экспрессии использовали дисперсионный анализ ANOVA (Microsoft Excel) с последующим тестом Tukey. Корреляции между паттернами экспрессии рассчитывали с использованием коэффициента Пирсона ($P=0.001$).

2.2.13 Выделение ДНК растений популяции RICL от скрещивания CS × CS-5Bdic

ДНК выделяли методом с использованием пиросульфита натрия. К свежей ткани листа (100 – 150 мг) добавляли 200 мкл экстракционного буфера (0.1 М Tris, 0.5 М NaCl, 0.05 М EDTA, 0.38 % NaHSO₃, 1.25 % SDS) и гомогенизировали на приборе MP FastPrep-24 (MP Biomedicals). Затем добавляли ещё 500 мкл экстракционного буфера (+60 °C), перемешивали и инкубировали 30 минут при +60° C. Добавляли 700 мкл смеси хлороформ/изоамиловый спирт (24:1 vol:vol). После центрифугирования (15 мин, 12000 rpm, Eppendorf 5415 R), супернатант переносили в новые пробирки, добавляли 1.4 мл 96 % холодного (–20 °C) этилового спирта и перемешивали. После центрифугирования (15 мин, 12000 rpm) супернатант сливали и осадок ДНК промывали 70 % этанолом, высушивали и ресуспендировали в 50 мкл TE буфера.

Очистку ДНК для SNP-генотипирования осуществляли с использованием набора “Bio-Silica kit for DNA purification from reaction mixtures” следуя протоколу

производителя. Измерение концентрации ДНК осуществляли на приборе NanoDrop M2000 (Thermo Scientific).

2.2.14 SNP-генотипирование

На материале сорта CS, линии сорта CS с замещенной хромосомой 5B (CS-5Bdic), 116 RICL, полученных от их скрещивания, DT5BL и N5BT5D проводили генотипирование с использованием Illumina Infinium 15 k Wheat platform в компании TraitGenetics GmbH (TraitGenetics). Всего было проанализировано 13007 локусов. DT5BL и N5BT5D были включены в данный анализ для дальнейшей локализации маркеров на коротком (5BS) или длинном (5BL) плече хромосомы 5B.

2.2.15 Скрининг популяции RICL с праймерами, специфичными к гену *VRN-B1*

Для скрининга рекомбинантных инбредных хромосомных линий, использовали праймеры, специфичные для аллеля *T. aestivum* сорта Chinese Spring и *T. dicoccoides* линии CS-5Bdic. Последовательности прямых праймеров dicCSintr5 (5'-CCTTGCATACCTGAACCG-3') и CSintr5 (5'-ACCTTGCATACCTGAACCA-3') были сконструированы таким образом, чтобы последний нуклеотид на 3' конце был специфичен SNP в пятом интроне гена *VRN-B1*. Эти праймеры использовали в комбинации с общим обратным праймером Ex8/7 (5'-GCCCTTCAGCCGTTGATGGGCTA-3') (Kiseleva et al., 2016). Амплификацию осуществляли по протоколу Touchdown с постепенным понижением температуры отжига праймеров на 0.5 °C/цикл от 62 °C до 56 °C. Пара праймеров CSintr5 // Ex8/7 давала продукт 700 п.н. в случае аллеля CS и не амплифицировалась в случае аллеля *T. dicoccoides*. И наоборот, пара праймеров dicCSintr5 // Ex8/7 давала продукт 700 п.н. в случае аллеля *T. dicoccoides*. Этот подход позволяет выявлять и гетерозиготные аллели.

2.2.16 Разработка генетической карты

Генетическую карту хромосомы 5В конструировали с использованием программы MultiPoint версия «UltraDense» (Ronin et al., 2013). Маркеры с количеством пропусков больше 8 и маркеры со значительным нарушением сегрегации ($\chi^2 > 21$) удаляли. Коэффициенты приоритета выставляли 0.9 для пропусков и 0.1 для сегрегации, поскольку ожидали получить только одну группу сцепления. Минимальный размер групп косегрегирующих маркеров был 2. Косегрегирующими называют маркеры, располагающиеся в одной позиции. Упорядочивание скелетных маркеров осуществляли с использованием алгоритма стратегии направленной эволюции (guided evolutionary strategy, GES) (Ronin et al., 2010) с последующими 10 повторными выборками методом складного ножа (jackknife). Для получения стабильной карты маркеры, дестабилизирующие соседние локусы, и маркеры, нарушающие монотонность рекомбинации, удаляли. Под монотонностью понимают последовательное изменение частот рекомбинации (recombination fraction, rf) между соседними маркерами. Затем, одиночные маркеры добавляли в карту с использованием функции «расширение группы сцепления (extending linkage group)» с последовательным изменением коэффициента увеличения от 1.0 до 1.4. Последовательность маркеров проверяли на нарушение монотонности и увеличение размера карты. Маркеры, которые не вошли в стабильную карту, но соответствовали какому-либо определенному интервалу, обозначали как «прикрепленные (attached)». Последовательность маркеров, полученная в результате картирования с использованием MultiPoint и генетические расстояния между маркерами, вычисленные с использованием картирующей функции Косамби, приведены в приложении 3. Визуализация генетической карты осуществлена с использованием программы MapChart 2.3 (Voorrips, 2002). Для сравнения полученной карты с ранее разработанными опубликованными картами использовали программу BioMercator V4.2 (Sosnowski et al., 2012)

2.2.17 QTL-анализ (выявление локусов количественных признаков) времени колошения

Рекомбинантные инбредные хромосомные линии от скрещивания CS × CS-5Bdic выращивали в различных условиях в 2014 и 2015 годах: яровизированные и неяровизированные растения выращивали в гидропонной теплице ИЦиГ СО РАН. Генетическая карта хромосомы 5B была модифицирована таким образом, чтобы расстояния между маркерами были 2 – 4 сМ. Для QTL анализа использовали программу MultiQTL (Korol et al., 2009), с использованием которой осуществляли интервальное картирование по одному признаку. Для вычисления порогового уровня LOD, проводили 1000 пермутаций с использованием опции “Comparing Hypotheses H1→H0” (сравнение гипотез). Для оценки стандартных отклонений главных параметров, применяли бутстрэп-анализ.

2.2.18 Выявление генов – кандидатов, определяющих различия по времени колошения

Для определения генов – кандидатов, ассоциированных с различиями по времени колошения, последовательности SNP маркеров (последовательности взяты из базы данных The Triticaceae Toolbox из области QTL были проанализированы с использованием Gramene BLASTN относительно последовательностей брахиподиума (*Brachypodium distachyon*), риса (*Oryza sativa* (Indica)), ячменя (*Hordeum vulgare*), пшеницы урарту (*Triticum urartu*), мягкой пшеницы (*Triticum aestivum*), эгилопса Тауша (*Aegilops tauschii*). Полученные результаты были суммированы и аннотированы с использованием базы данных UniProt. SNP, локализованные в области QTL, и гены, ассоциированные с ними, представлены в приложении 4. В этой таблице можно найти также аннотацию семейства/доменов данных генов на основании данных InterPro (<https://www.ebi.ac.uk/interpro/>). Затем была проанализирована вероятность вовлечения данных генов в механизмы, определяющие время цветения.

Глава 3. Результаты

3.1 Оценка аллельного состояния известных генов, ассоциированных с временем колошения, у NILs и их родительских линий

3.1.1 Аллели генов *VRN-1* у анализируемых изогенных линий

Одной из причин различия линий по времени колошения (рис. 13) могли быть гены *VRN-1*, локализованные на хромосомах 5A, 5B и 5D, соответственно (Law et al., 1976; Galiba et al., 1995; Dubcovsky et al., 1998). Были использованы опубликованные ген-специфичные маркеры, эффективные для выявления аллелей генов *VRN-1* (Yan et al., 2004; Fu et al., 2005). Как следует из рис. 14, все родительские генотипы несут одни и те же доминантные аллели *Vrn-A1* (965 п.н. и 876 п.н.) и *Vrn-B1* (709 п.н.). Однако, мы показали, что Sonora отличается от реципиентного родителя ФЧЛ2 присутствием доминантного аллеля *Vrn-D1*. Линии Ppd-m и Ppd-0^m, Ppd-w и Ppd-0^w унаследовали доминантный аллель *Vrn-D1* от сорта Sonora (рис. 14). Таким образом, между сестринскими линиями не выявлено полиморфизма по генам *VRN-1*.

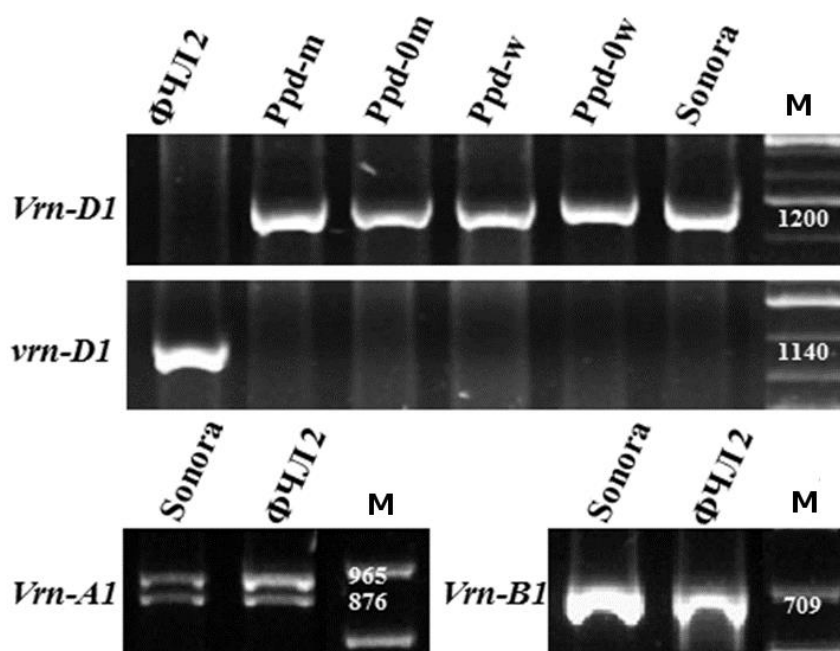


Рис. 14. Электрофореграмма продуктов аллель-специфичной ПЦР для выявления аллелей генов *Vrn-A1*, *Vrn-B1* и *Vrn-D1* у родительских генотипов и почти изогенных линий от их скрещивания. Аллели: *Vrn-A1a* – 965 и 876; *Vrn-B1* – 709; *Vrn-D1* – 1200; *vrn-D1* – 1140 п.н. М обозначает маркер длины.

3.1.2 Анализ аллельного состава генов *PPD-1*

Почти изогенные линии (*Ppd-m*, *Ppd-w*), их «рецессивные» сибсы (*Ppd-0^m*, *Ppd-0^w*) и родительские формы (*Sonora* и *ФЧЛ2*) были проанализированы с использованием ген-специфичных праймеров к известным последовательностям аллелей генов семейства *PPD-1*, определяющих нечувствительность к фотопериоду, и, таким образом, время колошения (рис. 10).

Методом ПЦР с использованием ген-специфичных праймеров было установлено, что все исследуемые образцы не содержат опубликованные ранее аллели *Ppd-D1a*, *Ppd-A1a* и *Ppd-B1a*, для которых характерны мутации в промоторной области (рис. 15).

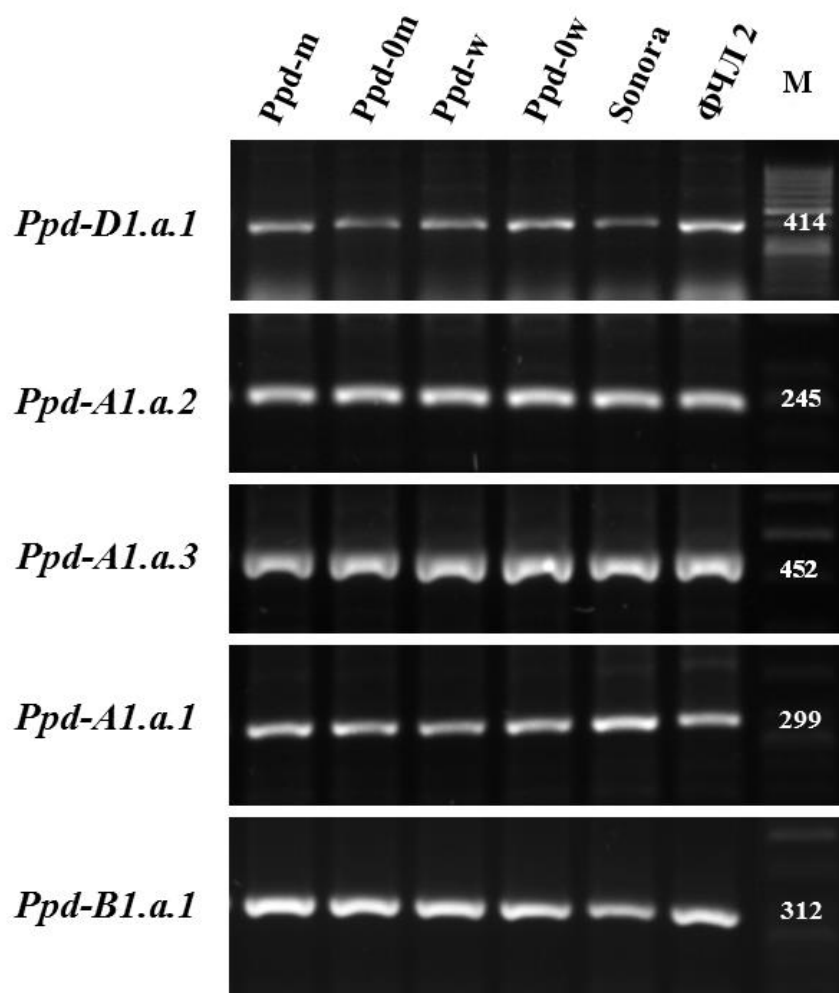


Рис. 15. Электрофореграммы продуктов ПЦР на материале ДНК почти изогенных линий с праймерами к известным аллелям генов *PPD-1*, определяющих слабую фотопериодическую чувствительность. М обозначает маркер длины.

3.2 SSR генотипирование для определения локуса, ассоциированного со временем колошения у NILs

Поскольку было установлено, что разница по времени колошения почти изогенных линий и их родительских форм Sonora и ФЧЛ2 не объясняется присутствием доминантных аллелей генов *VRN-1* и *PPD-1*, был проведен SSR-анализ для выявления локуса, детерминирующего различия линий по времени колошения.

Был проанализирован полиморфизм 239 SSR-маркеров, картированных на хромосомах А, В и D генома (Song et al., 2005). Из их числа было выявлено 85 информативных SSR-маркеров, полиморфных между родительскими генотипами (ФЧЛ 2 и Sonora). Так как SSR-маркеры, разработанные ранее (Song et al., 2005; Roder et al., 1998), консолидированы на единой генетической карте (Song et al., 2005) и охватывают практически весь геном, можно было выявить области на хромосомах для каждой изогенной линии, сравнив данные генотипирования линий между собой и реципиентным родителем ФЧЛ2 (рис. 16, 17).

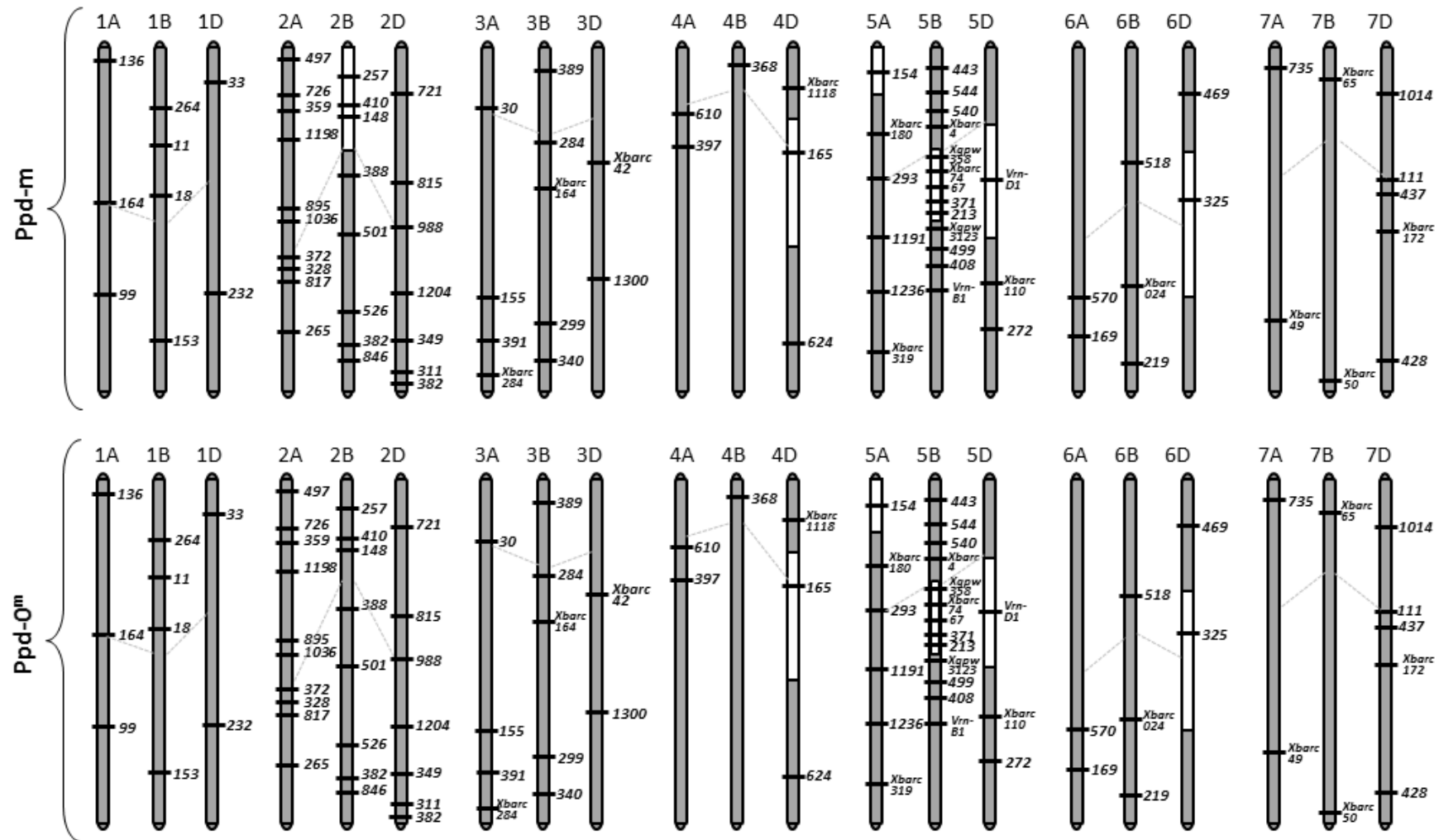


Рис. 16. Генотипы сестринских почти изогенных линий Ppd-m и Ppd-0^m с интрогрессированными аллелями сорта Sonora (белый цвет) в генетическую среду реципиентного родителя ФЧЛ2 (серый цвет). Проанализированные микросателлитные локусы по (Roder et al., 1998; Ganai & Röder, 2007) указаны цифрами. Микросателлиты «Xbarc» указаны по (Song et al., 2005), «Xgwp» по (Carollo et al., 2005).

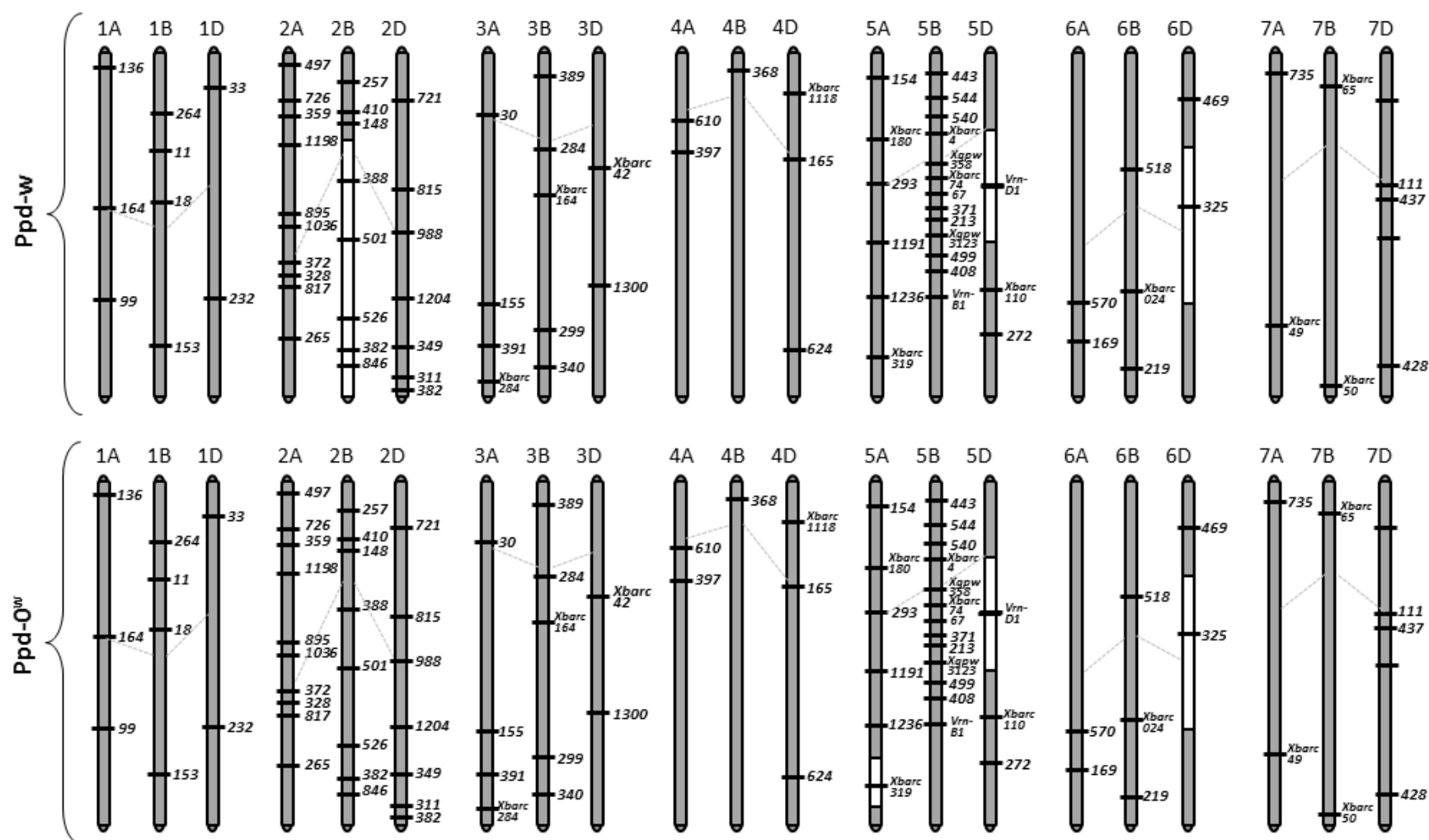


Рис. 17. Генотипы сестринских почти изогенных линий Ppd-w и Ppd-0^w с интрогрессированными аллелями сорта Sonora (белый цвет) в генетическую среду реципиентного родителя ФЧЛ2 (серый цвет). Проанализированные микросателлитные локусы по (Roder et al., 1998; Ganai & Röder, 2007) указаны цифрами. Микросателлиты «Xbarc» указаны по (Song et al., 2005), «Xgprw» по (Carollo et al., 2005).

Число информативных маркеров, выявленных для каждой из хромосом, варьирует от 2 до 13. Для двух пар сестринских почти изогенных линий Ppd-m, Ppd-0^m и Ppd-w, Ppd-0^w, полученных от скрещивания реципиентного родителя ФЧЛ2 и рано переходящего к колошению сорта Sonora, была выявлена интрогрессия фрагмента хромосомы 2В от сорта Sonora, а также обнаружены интрогрессии фрагментов 4DS, 5AS, 5BL, 5DS, 6DL. Практически все интрогрессии, за исключением хромосомы 2В, присутствуют параллельно как у нечувствительных к фотопериоду линий Ppd-m, Ppd-w, так и у их фоточувствительных сибсов Ppd-0^m и Ppd-0^w соответственно (рис. 16, 17).

Результаты SSR-генотипирования показали, что наиболее вероятная причина различной ФПЧ сестринских NILs – унаследованные от сорта-донора фрагменты хромосомы 2В, предположительно несущие *Ppd-B1a*. Помимо этих интрогрессий был выявлен один случай асимметричного наследования родительских аллелей в паре сестринских NILs: фрагмент 5AL у линии Ppd-0^w.

Согласно полученным результатам, раннее колошение линий Ppd-m и Ppd-w по сравнению с их рецессивными сестринскими линиями, объясняется интрогрессией от донора Sonora общего хромосомного сегмента 2В.

3.3 Характеристика локуса, локализованного на коротком плече хромосомы 2В и ассоциированного со временем колошения почти изогенных линий

Исследуемые линии были генотипированы с использованием репрезентативного количества SSR-маркеров и было установлено, что эти пары изогенных линий имеют практически идентичный геном, за исключением хромосомы 2В. Хотя было установлено, что линии и Sonora не содержат нечувствительного к фотопериоду аллеля *Ppd-B1a*, ассоциированного с инсерцией 308 п.н. в промотерной области, было сделано предположение, что другой аллель *Ppd-B1a* может быть причиной раннего колошения.

3.3.1 Анализ последовательностей нечувствительного к фотопериоду аллеля *Ppd-B1a*

Для изучения возможного полиморфизма, ампликоны, перекрывающие последовательность гена и его промоторную область, были вставлены в вектор рAL-ТА с последующей трансформацией *E.coli*, и отдельные колонии, содержащие отдельные копии, были секвенированы и проанализированы.

Результаты представлены на рис. 18. Каждая из исследуемых линий отличалась однонуклеотидной делецией в промоторной области (-2373 п.н.) от нечувствительного к фотопериоду аллеля *Ppd-B1a* сортов Sonora64, Timstein, C591 и Renan. Другая однонуклеотидная замена (-630 п.н.) позволяла различать чувствительные и нечувствительные к фотопериоду линии между собой. Так, *Ppd-m* и *Ppd-w* характеризовались нуклеотидом “С” в данной позиции, а их сестринские линии - “G”. Данный SNP (“G”) был ранее обнаружен у таких чувствительных к фотопериоду сортов, как Recital, Paragon и Winter-Abukumawase, но никакой ассоциации с чувствительностью к фотопериоду выявлено не было (Beales et al., 2007; Díaz et al., 2012). Интересно заметить, что аллель *Ppd-B1a* родительского сорта Sonora и остальных тетра- и гекса- плоидных пшениц несет нуклеотид “С” в данной позиции. В третьем экзоне (+546 п.н.) был обнаружен SNP, отличающий исследуемый аллель от другого аллеля с увеличенным числом копий, характерного для сорта Chinese Spring.

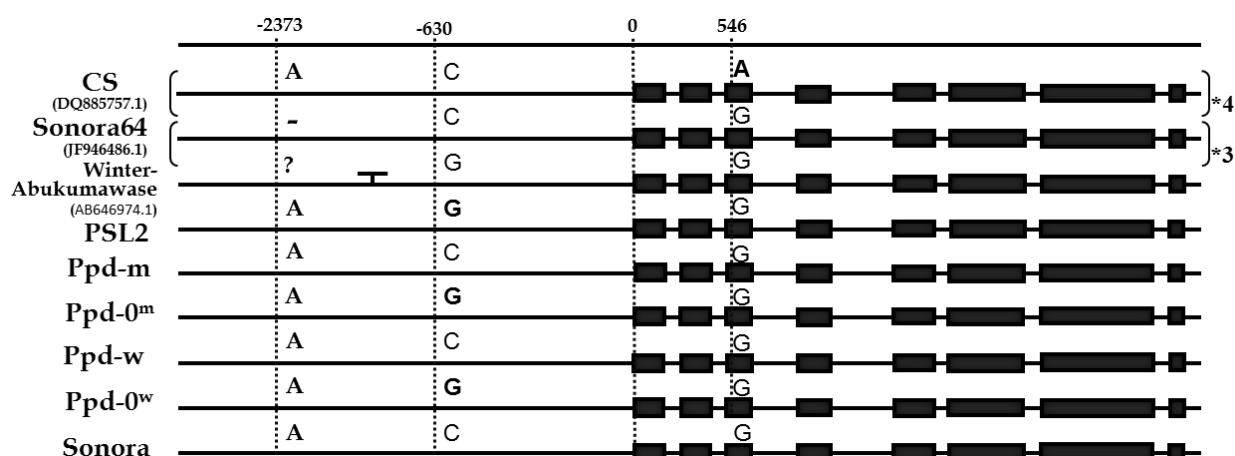


Рис. 18. Схема гена *PPD-B1* с обозначением характерных особенностей. Расстояния представлены в п.н. от TSS (точки старта транскрипции). Черные прямоугольники обозначают экзоны. Т-образный элемент обозначает инсерцию. Буквами обозначены SNP.

Таким образом, выявлены инсерция/делеция и несколько SNP, позволяющих отличать изучаемый аллель *Ppd-B1a* от других доминантных аллелей.

3.3.2 Измерение копийности гена *PPD-B1* и анализ межкопийного района

Díaz с соавторами (Díaz et al., 2012) показали, что чувствительность к длине дня может быть обусловлена не только нуклеотидным полиморфизмом гена *PPD-B1*, но и изменением числа копий гена. Сорта с увеличенным числом копий гена *PPD-B1* характеризуются слабой чувствительностью к фотопериоду, в то время как сорта с меньшим числом копий данного гена чувствительны к длине дня. Увеличение числа копий гена влечет за собой изменение экспрессии, влияя тем самым на чувствительность к фотопериоду и вызывая раннее колошение.

С помощью метода ПЦР в реальном времени была проведена оценка степени различия числа копий гена *PPD-B1* в исследуемых линиях (рис. 19).

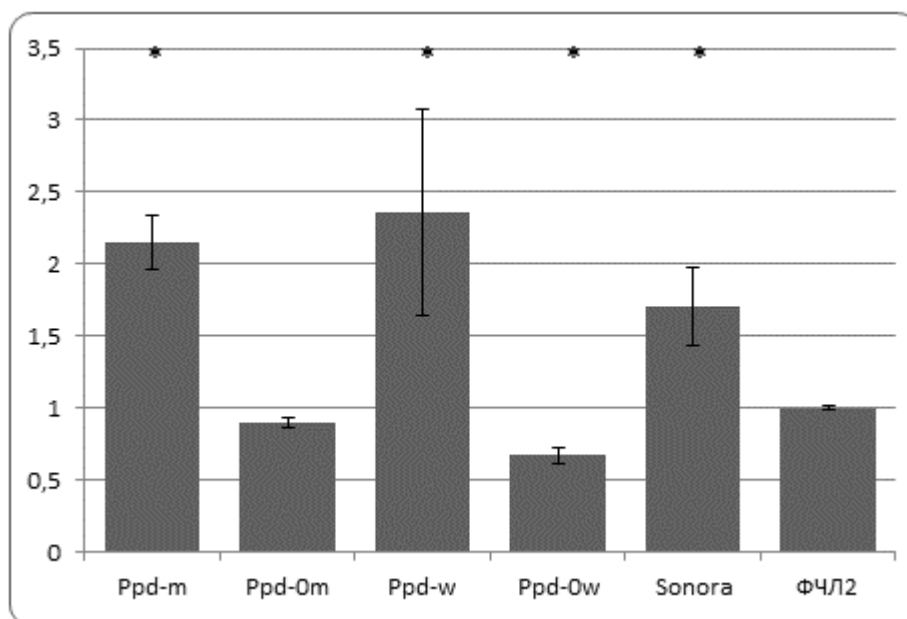


Рис. 19. Оценка копийности гена *PPD-B1* у исследуемых линий методом ПЦР в реальном времени с использованием SYBR Green I.

Полученные результаты согласуются с данными, опубликованными ранее (Díaz et al., 2012). Линии, нечувствительные к длине дня (Ppd-m и Ppd-w) содержат достоверно большее число копий гена относительно чувствительного к длине дня родительского сорта (ФЧЛ2). Чувствительные к фотопериоду линии Ppd-0^m и Ppd-0^w содержат столько же копий гена *PPD-B1*, что и ФЧЛ2 (рис. 19). Можно сделать

вывод о том, что нечувствительные к длине дня линии содержат достоверно большее число копий гена *PPD-B1*.

В ходе экспериментов Kiss et al. (Kiss et al., 2014) было установлено, что фенотипический эффект, связанный с локусом *PPD-B1*, ассоциирован не только с числом копий гена, но и с типом межкопийной структуры и их взаимодействием. В полевых условиях было показано, что тип межкопийной структуры влияет на время цветения в большей степени, чем число копий гена. Так, растения с типом межкопийной области как у сорта Sonora 64, Timstein, C591 зацветали раньше, чем растения с типом межкопийной области как у сорта Recital независимо от числа копий. Эти результаты хорошо согласуются с данными, полученными на материале линий сорта Paragon с интрогрессиями различных аллелей *Ppd-B1*, выращенных в условиях короткого дня (Díaz et al., 2012), с той лишь разницей, что в условиях полевого эксперимента эффект аллеля как у сорта Chinese Spring был более близок к эффекту аллеля сорта Sonora, что означает значительно более раннее цветение.

Для определения типа межкопийной последовательности была проведена ПЦР с праймерами, специфичными для типа межкопийной области сорта Sonora 64. Показано, что для исследуемых слабочувствительных к фотопериоду линий *Ppd-m*, *Ppd-w* и сорта Sonora характерно наличие данного межкопийного района, характерного для сортов Sonora 64, Timstein и C591 (рис. 20).

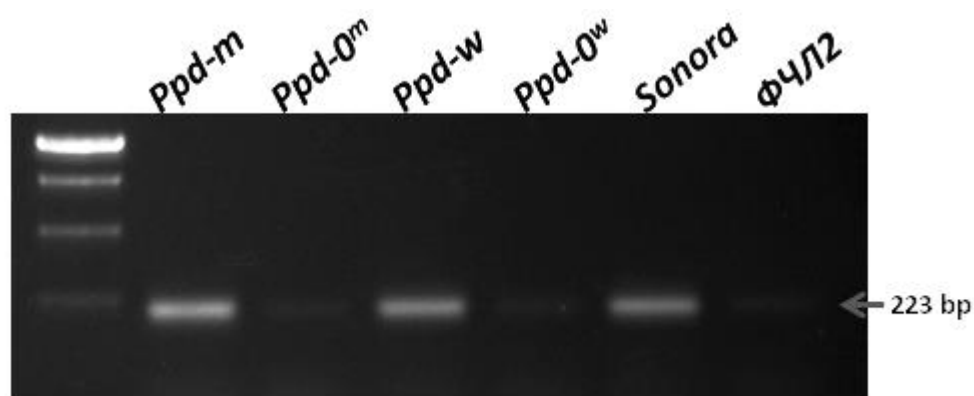


Рис. 20. Электрофореграмма продуктов ПЦР, полученных с использованием праймеров к межкопийному району гена *PPD-B1*, характерному для сортов Sonora 64, Timstein, C591 на материале почти изогенных линий и их родительских форм, отличающихся по чувствительности к фотопериоду.

Поскольку почти изогенные линии *Ppd-m* и *Ppd-w* с интрогрессированным нечувствительным к фотопериоду аллелем *Ppd-B1a* выколашивались лишь немного

позже линии с интрогрессированным аллелем *Ppd-D1a*, было сделано предположение, что нечувствительные к фотопериоду линии *Ppd-m* и *Ppd-w*, хотя и содержат большее число копий гена *PPD-B1*, но также могут отличаться нуклеотидным полиморфизмом одной из копий этого гена.

Принимая во внимание результаты проведенного в данной работе секвенирования последовательностей генов *PPD-1*, можно сказать, что рано переходящие к колошению линии содержат *Ppd-B1a* аллель с увеличенным числом копий и межкопийной областью как у сортов Sonora 64, Timstein и C591, но изучаемый аллель отличается от аллеля сортов Sonora 64, Timstein и C591 однонуклеотидной делецией в промоторной области. Никаких различий между копиями выявлено не было.

3.3.3 Биоинформатический анализ промоторов генов *PPD-1*

По литературным данным известно, что для аллеля *Ppd-B1a* с увеличенным числом копий характерно усиление экспрессии (Díaz et al., 2012). Для изучения механизмов, лежащих в основе изменения экспрессии данного аллеля был проведен биоинформатический анализ. Для выявления вероятных факторов, вовлеченных в специфичную регуляцию *PPD-B1*, но не *PPD-A1* и *PPD-D1*, промоторные области данных генов были изолированы для выявления (1) сайтов связывания транскрипционных факторов (TFBSs, Transcription Factor Binding Sites) общих для всех генов *PPD-1* и (2) сайтов связывания транскрипционных факторов, специфичных для *PPD-B1* гена.

Для выявления TFBSs, общих для всех трех *PPD-1* генов, использовали функцию анализа множества промоторов программы PlantPan2. *In silico* анализ промоторов генов позволил выявить множество цис-элементов, ассоциированных с цветением. Были выявлены сайты связывания транскрипционных факторов, и данные факторы, на основании природы воспринимаемого ими сигнала, можно разделить на три группы.

Первая группа – транскрипционные факторы, регулируемые фитохромами: VOZ2 (VOZ), Phytochrome Interacting Factor3 (bHLH), Phytochrome Interacting Factor3-Like5 (bHLH), FHY3/FAR1 (FAR1), RVE7/EPR1 (Myb/SANT;MYB-related), и

сайты связывания, транскрипционные факторы для которых ещё не установлены: SORLIP2AT и SORLIP1AT, RE1ASPHYA3. Вторая группа – транскрипционные факторы, регулируемые циркадными ритмами: RAV1 (AP2/RAV/B3), TEM1 и TEM2 (AP2/RAV/B3), RVE1 (MYB-related), RVE8 (Myb/SANT;MYB-related), CCA1 и LHY (MYB), CHE (TCP). Третья группа - прочие транскрипционные факторы, регулируемые светом: GATA2 (GATA/tify), GATA12(GATA/tify), GT-1 (MADF; Trihelix), AtMYC2 (bHLH), и сайты связывания, транскрипционные факторы для которых ещё не установлены: BOXIIPCCHS, TBOXATGAPB, IBOXCORENT, LREBOXIIPCCHS1, IBOXCORE. Локализация сайтов их связывания на промоторах генов показано на рис. 21. Подробная характеристика транскрипционных факторов для выявленных сайтов связывания приведена в табл. 2.

Таблица 2. Характеристика ассоциированных с цветением транскрипционных факторов и TFBSs с неизвестными транскрипционными факторами, идентифицированными в промоторах *PPD-1* генов.

Семейство	Транскрипционные факторы/ TFBSs с неизвестными транскрипционными факторами	Описание
Фитохром-регулируемые транскрипционные факторы		
VOZ	VOZ2	Транскрипционный фактор VOZ2 – один из наиболее консервативных генов наземных растений, представляющий собой фактор, взаимодействующий с PHYB (Yasui et al., 2012).
bHLH	Phytochrome Interacting Factor3 (PIF3)	G-box, CACGTG, является целевой последовательностью для PIF3 (Shin et al., 2007). PIF3 выполняет важные функции в фитохром-опосредованном ответе. Этот фактор может регулировать целевые гены как позитивно, так и негативно (Kim et al., 2003). Было показано, что у арабидопсиса PIF3 может контролировать цветение, регулируя экспрессию генов <i>CO</i> и <i>FT</i> (Oda et al., 2004).
bHLH	Phytochrome Interacting Factor3-Like5 (PIL1)	PIL5 взаимодействует с Pfr (дальней красной) формой PHYA и PHYB (Oh et al., 2004).
FAR1	Far-Red Elongated Hypokotyls3/Far-Red-Impaired Response1 (FHY3/FAR1)	Транскрипционный фактор FHY3/FAR1 модулирует PHYA-опосредованный сигналинг у высших растений (Hudson et al., 2003). Так же была показана значимая роль FHY3 в регулировании циркадных ритмов и времени цветения посредством влияния на <i>ELF4</i> (<i>EARLY FLOWERING4</i>) (G. Li et al., 2011).
Myb/SANT; MYB-related	RVE7/EPR1	PHYA и PHYB регулируют <i>RVE7/EPR1</i> , который негативно влияет на переход к цветению (Kuno et al., 2003).
-	SORLIP2AT и SORLIP1AT	Последовательности, избыточно представленные в промоторах генов, индуцируемых светом (Sequences Over-Represented in Light-Induced Promoters) SORLIP2AT и SORLIP1AT идентифицированы в промоторах многих генов, регулируемых PHYA (Hudson & Quail, 2003).
-	RE1ASPHYA3	RE1ASPHYA3 (RE1, putative repressor element) – высококонсервативный мотив, обнаруженный у большинства однодольных, ответственный за репрессию, индуцированную Pfr (фитохромом в форме красный) (Bruce et al., 1991; Ngai et al., 1997).

Семейство	Транскрипционные факторы/ TFBSs с неизвестными транскрипционными факторами	Описание
Транскрипционные факторы, регулируемые циркадными ритмами		
AP2/RAV/B3	RAV1	RAV1 негативно регулирует развитие растений (Hu et al., 2004).
AP2/RAV/B3	TEMPRANILLO1 (TEM1) TEMPRANILLO2 (TEM2)	Гены <i>TEM1</i> и <i>TEM2</i> являются непосредственными репрессорами <i>FT</i> (Castillejo & Pelaz, 2008).
MYB-related	REVEILLE1 (RVE1)	RVE1 – транскрипционный фактор утренней фазы, объединяющий циркадные ритмы и пути ауксинового сигналинга (Rawat et al., 2009).
Myb/SANT; MYB-related	REVEILLE 8 (RVE8)	RVE8 стимулирует экспрессию некоторых вечерних генов циркадных ритмов и формирует негативную петлю обратной связи с <i>PRR5</i> (Rawat et al., 2011; Farinas & Mas, 2011).
MYB	Circadian Clock Associated 1 (CCA1); Late Elongated Hypocotyl (LHY)	MYB-транскрипционные факторы <i>CCA1</i> и <i>LHY</i> являются одними из ключевых компонентов центрального осциллятора циркадных часов растений (Mizoguchi et al., 2002). <i>LHY</i> и <i>CCA1</i> негативно регулируют экспрессию <i>TOC1</i> .
TCP	CCA1 HIKING EXPEDITION (CHE)	TCP-транскрипционный фактор <i>CHE</i> является компонентом циркадных часов, частично дублирующим функции <i>LHY</i> и репрессирующим <i>CCA1</i> (Pruneda-Paz et al., 2009).
Другие транскрипционные факторы, регулируемые светом		
GATA/tify	GATA2	GATA2 напрямую регулирует светозависимые гены (Luo et al., 2010).
GATA/tify	GATA12	GATA12 вовлечен в регуляцию многих генов, реагирующих на освещенность (Franco-Zorrilla et al., 2014; Manfield et al., 2007).
MADF; Trihelix	GT-1	GT-1 может действовать как светозависимый транскрипционный фактор (Green et al., 1988).
bHLH	AtMYC2	AtMYC2 является негативным регулятором фотоморфогенеза, опосредованного синим светом, и экспрессии генов, регулируемых синим и красным светом (Yadav et al., 2005).
-	BOXIIPCCHS	BOXIIPCCHS необходимыми для светозависимой регуляции многих генов (Block et al., 1990; Terzaghi & Cashmore, 1995).
-	TBOXATGAPB	Мутации в сайте TBOXATGAPB обуславливают ослабление транскрипции, активируемой светом (Chan et al., 2001; Yamamoto et al., 2007).
-	IBOXCORENT	Мотив IBOXCORENT ассоциирован со светозависимыми районами в промотерах (Martinez-Hernandez et al., 2002).
-	LREBOXIIPCCHS1	Светозависимый элемент LREBOXIIPCCHS1 изначально выявлен у петрушки (Schulze-Lefert et al., 1989).
-	IBOXCORE	Консервативная последовательность IBOXCORE в промотерной области светочувствительных генов может быть вовлечена в регуляцию транскрипции светом или циркадными ритмами. Данная последовательность обнаруживается как у двудольных, так и однодольных (Borello et al., 1993).

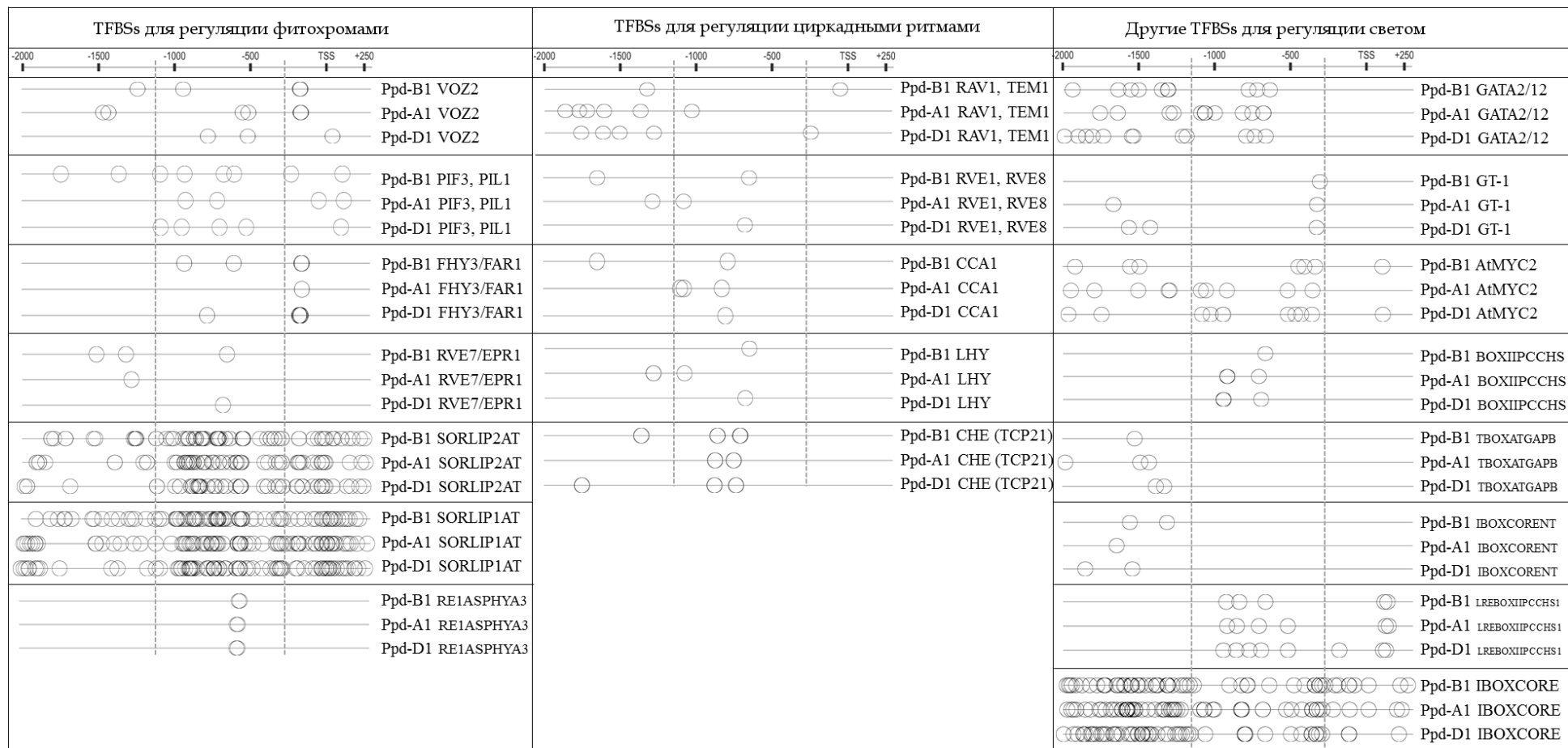


Рис. 21. Сайты связывания транскрипционных факторов, общих для *PPD-1* генов. Вертикальные пунктирные линии обозначают границы 900-п.н. области, которую считают важной для регуляции экспрессии (Wilhelm et al., 2009; Nishida, Yoshida, et al., 2013). TSS обозначает сайт старта транскрипции, расстояния представлены в парах нуклеотидов.

3.3.4 Сайты связывания, специфичные для гена *PPD-B1*

Были выявлены сайты связывания транскрипционных факторов, специфичных для *PPD-B1* гена и ассоциированных со временем цветения или циркадными ритмами: ANT (AP2); Zat12 (C2H2); AGL19, FLC, MAF2, AGL69, AGL68, FLM, AGL6, AGL18, AGL14, AGL15 (MADS box/MIKC), PAL1 (Lyase Aromatic). Также были идентифицированы сайты связывания, транскрипционные факторы для которых не были установлены: RBCSGBOXPS, REBETALGLHCB21, LEAFYATAG, SORLIP5AT, MNF1ZMPPC1. Расположение TFBSs на последовательности гена *PPD-B1* представлены на рис. 22. Подробная характеристика транскрипционных факторов для выявленных сайтов связывания приведена в табл. 3.

Таблица 3. Характеристика отобранных транскрипционных факторов и TFBSs с неизвестными транскрипционными факторами, идентифицированными в промоторе *PPD-B1*.

Семейство	Транскрипционные факторы/ TFBSs с неизвестными транскрипционными факторами	Описание
AP2	AINTEGUMENTA (ANT)	ANT инициирует развитие органов цветка (Elliott et al., 1996). Было показано, что этот фактор выполняет важные функции в регуляции развития женского гаметофита (Klucher et al., 1996).
C2H2	RESPONSIVE TO HIGH LIGHT 41 (Zat2)	<i>Zat12</i> был изначально идентифицирован в качестве молекулы кДНК, участвующей в ответе на световой стресс (Iida et al., 2000). Позже была показана его роль в регуляции транскрипции генов, вовлеченных в реакцию на повышенную освещенность, холод и оксидативный стресс (Davletova et al., 2005).
MADS box/MIKC	AGL19	AGL19 участвует в индукции цветения, опосредованного путем восприятия холода, и действует независимо от FT1 и SOC1 (Schönrock et al., 2006).
MADS box/MIKC	FLOWERING LOCUS C (FLC)	FLC является ингибитором цветения (Michaels & Amasino, 2001).
MADS box/MIKC	MAF2 (AGL31)	<i>MAF2</i> (<i>AGL31</i>), паралог <i>FLC</i> , представляет собой еще один репрессор, действующий в условиях неиндуктивного фотопериода (Scortecci et al., 2001; Ratcliffe et al., 2003).
MADS box/MIKC	AGL69 (MAF5)	<i>MAF5</i> в обычном состоянии репрессирован. Сверхэкспрессия данного гена в условиях неиндуктивного фотопериода обуславливает задержку цветения (Kim & Sung, 2010).
MADS box/MIKC	AGL68 (MAF4)	MAF4 подавляет переход к цветению (Gu et al., 2009; Gu et al., 2013).
MADS box/MIKC	FLM (AGL27, MAF1)	FLM является ингибитором цветения (Scortecci et al., 2003).
MADS box/MIKC	AGL6	AGL6 может действовать и как репрессор цветения, и как активатор в зависимости от условий (Koo et al., 2010).
MADS box/MIKC	AGL14 (XAANTAL2, XAL2)	XAL2 необходим для индукции цветения. XAL2 индуцирует цветение в ответ на различные сигналы, он также участвует в поддержании и дифференцировке флоральных меристем (Pérez-Ruiz et al., 2015).
MADS box/MIKC	AGAMOUS-like 15 (AGL15)	

Семейство	Транскрипционные факторы/ TFBSs с неизвестными транскрипционными факторами	Описание
MADS box/MIKC	AGAMOUS-like 18 (AGL18)	AGL15 и AGL18 являются репрессорами цветения. Мутантные по данным генам <i>agl15 agl18</i> растения характеризуются частичной супрессией фотопериодического пути (Adamczyk et al., 2007).
-	RBCSGBOXPS	Сайт связывания RBCSGBOXPS, изначально идентифицированный у петрушки, вовлечен в ответ на свет (Gilmartin et al., 1990).
-	REBETALGLHCB21	REBETALGLHCB21, впервые обнаруженный в генах <i>Lhcb</i> ряски, необходим для фитохром-зависимой регуляции. Вероятно, эти элементы подавляют активацию развития в темноте (Degenhardt & Tobin, 1996).
-	SORLIP5AT	SORLIP5AT являются фитохром А-индуцируемыми мотивами, избыточно представленными в генах, индуцируемых светом. Эти, преобладающие в промотерах генов раннего ответа на свет, элементы, вероятно, участвуют в наиболее быстром трансдукционном каскаде светозависимой экспрессии генов (Hudson & Quail, 2003).
-	MNF1ZMPPC1	MNF1ZMPPC1 вовлечен в светозависимый контроль транскрипции экспрессии генов (Morishima, 1998).

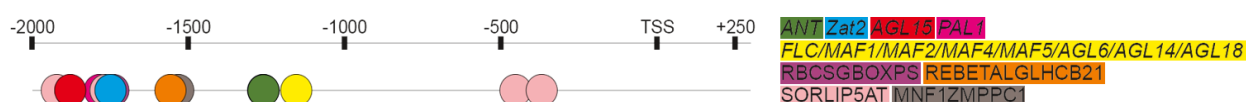


Рис. 22. Сайты связывания транскрипционных факторов, специфичных для гена *PPD-B1*. TSS обозначает сайт старта транскрипции, расстояния представлены в парах нуклеотидов. Различные цвета обозначают разные транскрипционные факторы и сайты их связывания (расшифровка дана справа от схемы).

3.4 Анализ времени колошения линий популяции RICL от скрещивания CS и CS-5Bdic

По данным предварительного анализа, разница во времени колошения Chinese Spring (CS) и линии сорта Chinese Spring, у которой хромосома 5B замещена на хромосому 5B *T. dicoccoides* (CS-5Bdic), составляла около 15 дней. Для того, чтобы выявить локус, определяющий различие CS и CS-5Bdic по времени колошения, на материале популяции 116 RICL, полученных от скрещивания данных образцов, было проведено генотипирование с использованием чипа Illumina Infinium 15k Wheat platform и фенотипический анализ времени колошения в различных условиях.

Оценка времени колошения яровизированных и неяровизированных растений проводилась в контролируемых условиях теплицы (осенняя вегетация). Различия по времени колошения у неяровизированных родительских сортов составляло 16 дней, в то время как между растениями, подвергнутыми яровизации, значимых различий

не наблюдалось (табл. 4). Распределение линий по времени перехода к колошению представлено на рис. 23.

Таблица 4. Время от всходов до колошения яровизированных и неяровизированных родительских сортов CS и CS-5Bdic, а также линий популяции от их скрещивания. * - обозначает значимые статистические различия между родительскими линиями в одинаковых условиях (t-тест, уровень значимости $p < 0,001$).

	Среднее число дней от всходов до колошения	
	отсутствие яровизации	яровизация
CS	$55.33^* \pm 2.06$	34.93 ± 1.67
CS-5Bdic	$70.875^* \pm 4.85$	36.88 ± 1.45
линии популяции	от 48 ± 1.5 до 78 ± 1.7	от 32 ± 1.64 до $42 \pm 2,38$

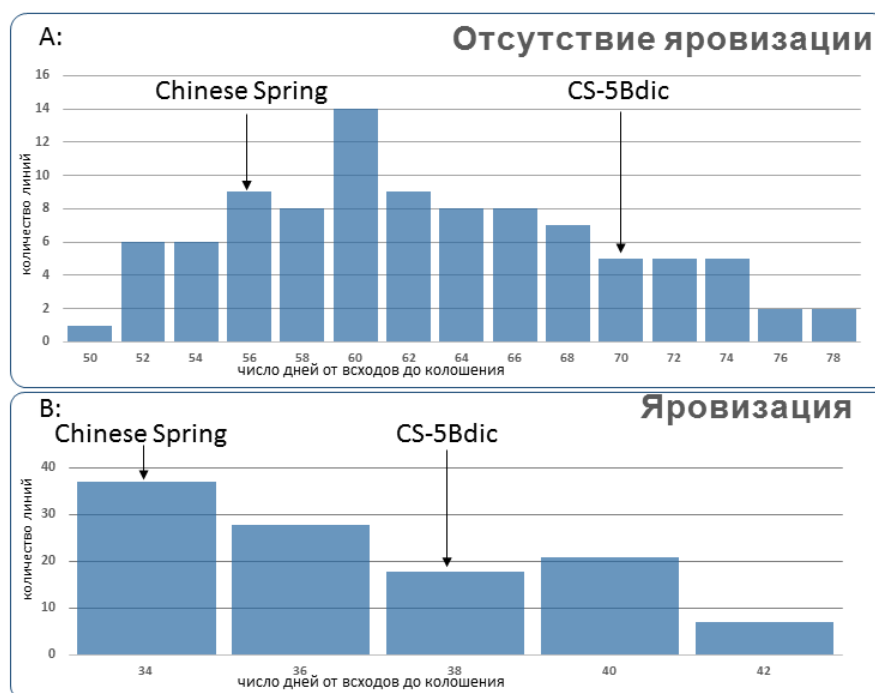


Рис. 23. Распределение перешедших к колошению линий популяции и их родительских сортов CS и CS-5Bdic по дням от всходов до колошения. А: распределение линий, не подвергнутым воздействию яровизации; В: распределение яровизированных линий (30 дней при +3 °C).

3.5 Аллели известных генов, которые могут быть связаны с различием по времени колошения CS и CS-5Bdic

По литературным данным известно, что сорт Chinese Spring содержит нечувствительный к фотопериоду аллель *Ppd-B1a*, определяющий раннее колошение. Но поскольку данный локус располагается на хромосоме 2В, быть причиной различия по времени колошения CS, CS-5Bdic и популяции от их скрещивания он не может – данные формы отличаются только хромосомой 5В. На 5 группе хромосом локализованы гены, которые могут влиять на время колошения, такие как *VRN-1* (Barrett et al., 2002; Leonova et al., 2003; Tóth et al., 2003), *PHYS* (Devos et al., 2005; Chen et al., 2014). Для *PHYS* к настоящему моменту не обнаружено аллелей, которые могли бы влиять на время колошения.

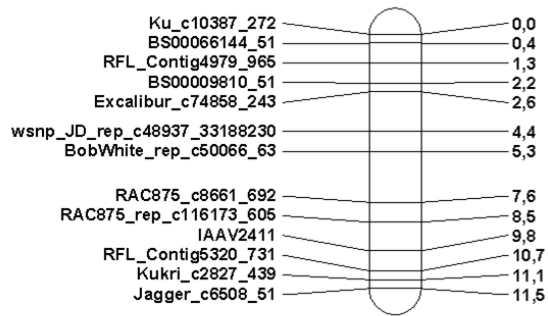
3.6 SNP-генотипирование для определения локуса, ассоциированного со временем колошения у популяции RICL

Для выявления локуса, ассоциированного с различием линий по времени колошения, RICL были генотипированы с использованием 13007 SNP маркеров чипа Illumina Infinium 15k Wheat platform, из которых 418 маркеров были полиморфны между родительскими линиями. Большинство маркеров были кодоминантными (детектировались оба аллеля), и 10 – доминантными.

3.6.1 Генетическая карта хромосомы 5В

Генетическая карта была разработана с использованием данных генотипирования 116 рекомбинантных инбредных линий с 418 полиморфными SNP маркерами с помощью программы MultiPoint (версия “UltraDense”). Длина получившейся карты составила 80.4 сМ и включала в себя 379 маркеров, из которых 82 – скелетные маркеры (рис. 24), каждый из которых представляет группу нерекombинирующих между собой (косегрегирующих) маркеров. Количество маркеров в таких группах варьировало от 2 до 23 маркеров.

5BS



5BL

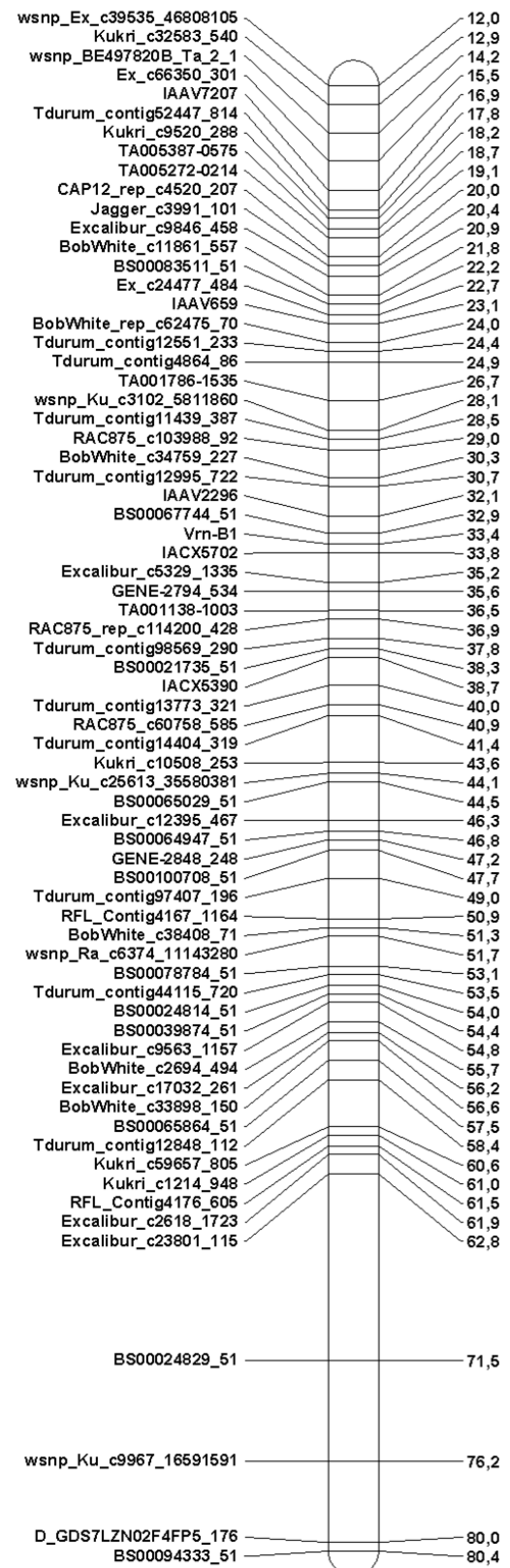


Рис. 24. Генетическая карта хромосомы 5В. На данной карте представлены 82 скелетных маркера. Полный список косегрегирующих с ними маркеров приведен в приложении 3. Расстояния указаны в сМ.

Два маркера BS00011514_51 и wsnr_RFL_Contig2809_2587619 оказались ассоциированы с геном *VRN-B1*, локализованным в позиции 33.4 сМ.

Для уточнения локализации маркеров на длинном или коротком плече хромосомы 5В, нулли-тетрасомная линия N5BT5D и дителосомная линия DT5BL были генотипированы, и полученная информация была сопоставлена с данными, опубликованными ранее. Впервые на хромосоме 5В были картированы 11 маркеров: Tdurum_contig31845_322, Kukri_c32583_540, BS00011102_51, TA005272-0214, RFL_Contig3455_700, BS00065265_51, TA001999-0466, BobWhite_c33898_150, Tdurum_contig12848_112, D_GDS7LZN02F4FP5_176, BS00094333_51. Все эти маркеры локализованы на длинном плече хромосомы 5В. По данным SNP-генотипирования RICL и анеуплоидных линий N5BT5D и DT5BL, большую часть проанализированных маркеров можно однозначно отнести к короткому или длинному плечу, область центромеры приходится на район между 11.5 сМ и 12.0 сМ. Сравнение с ранее разработанными и опубликованными картами позволило выявить маркеры с множественной локализацией.

Длина короткого плеча составила 11.54 сМ, на нем было локализовано 52 маркера, включая 13 скелетных. Длина длинного плеча была 68.9 сМ и включала 327 маркеров (69 скелетных). Суммарная длина хромосомы 5В составляла 80.4 сМ.

В среднем, длина хромосомы 5В тетраплоидных пшениц составляет 206.2 сМ (Massaferri et al., 2015). Разработанная нами карта была значительно короче. Возможно, причиной этого являются особенности процесса рекомбинации, характерные для данной популяции (CS x CS-5Bdic). Стоит заметить, что значительная доля линий (20.7%) имели родительский генотип, причем 15.5% нерекомбинантных хромосом были унаследованы от CS, а 5.2% от CS-5Bdic. Поскольку CS-5Bdic несет чужеродную интрогрессию от другого вида (*T. dicoccoides*), можно предположить, что аллели CS являлись более предпочтительными. Вероятно, рекомбинационные процессы между хромосомами различных видов проходят с нарушениями.

Центромерная область хромосомы 5В характеризовалась высокой концентрацией маркеров на генетическое расстояние. Так, среднее количество маркеров в центромерной области было 11 маркеров на сМ, а в остальных частях хромосомы – 2.3 маркера на сМ. Это связано с низким уровнем рекомбинации в этой

области и особенностью распределения генов (Massaferri et al., 2015). В предыдущих исследованиях было показано, что рекомбинация в прицентромерной области хромосомы 5В подавляется, особенно со стороны короткого плеча (Sourdille et al., 2004; Timonova et al., 2013).

Скелетные маркеры были равномерно распределены по хромосоме, за исключением дистальной части длинного плеча. Здесь интервалы между маркерами составляли 4 – 8 сМ: между Excalibur_c23801_115 и BS00024829_51 (примерно 8 сМ), BS00024829_51 и wsnr_Ku_c9967_16591591 (примерно 4 сМ), Ku_c9967_16591591 и D_GDS7LZN02F4FP5_176 (примерно 4 сМ), в то время как среднее расстояние между маркерами было 0.84 сМ. При этом, такая особенность была характерна и для других карт, например, разработанных Massaferri et al. (Massaferri et al., 2015): расстояния между маркерами в дистальной области 5BL составляло 4 – 10 сМ на картах, разработанных по популяциям Meridiano x Claudio, Mohawk x Cocorit и Latino x MG5323. Эти карты имеют общие маркеры с картой CS x CS-5Bdic в данной области хромосомы. Возможно, рекомбинация в данной области происходит реже, чем в других областях хромосомы из-за низкой насыщенности генами.

3.6.2 QTL-анализ

В процессе фенотипирования растительного материала было установлено, что значимые различия по времени колошения наблюдаются только у неярковизированных родительских линий. С использованием QTL-анализа, значимые LOD также были выявлены только в эксперименте с неярковизированными растениями. Идентифицированный QTL был локализован в прицентромерной области хромосомы 5В в интервале 11.2–18.4 сМ (рис. 25). Ген *VRN-B1* располагался в позиции 33.4 сМ и никаких корреляций данного локуса со временем колошения в данном анализе выявлено не было. Распределение значений LOD представлено в табл. 2.

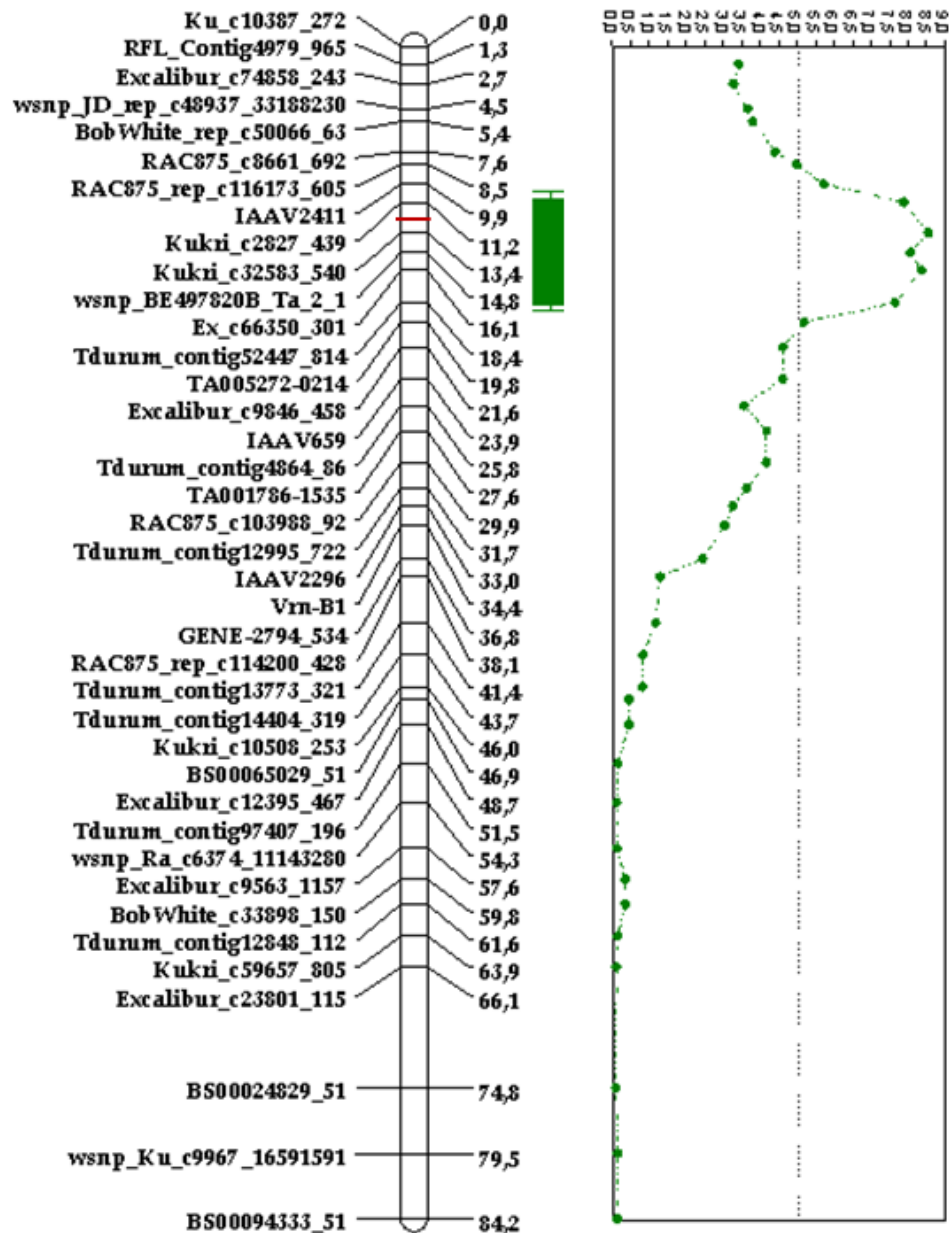


Рис. 25. Сокращенная генетическая карта хромосомы 5В с локализацией QTL времени колошения. Красная горизонтальная линия обозначает центромеру. Пунктирная линия означает пороговый уровень LOD.

QTL, ассоциированный со временем колошения, соответствовал нескольким группам косегрегирующих маркеров. Поскольку SNP-маркеры, использованные в данном чипе, были разработаны на основании кодирующих последовательностей (Wang et al., 2014), можно сравнить их с последовательностями из баз данных для модельных видов растений, чтобы выявить гены-кандидаты, обуславливающие изменение времени колошения.

3.7 Идентификация генов - вероятных детерминант времени колошения, локализованных в прицентромерной области хромосомы 5B

Последовательности 78 SNP, локализованных в интервале 11.2–18.4 сМ идентифицированного QTL, были проанализированы для того, чтобы выявить гены-кандидаты, вовлеченные в определение времени колошения. Было проведено сравнение последовательностей SNP с последовательностями из баз данных следующих видов: *Brachypodium distachyon*, *Oryza sativa*, *Hordeum vulgare*, *Aegilops tauschii*, *T. urartu* и *T. aestivum* с использованием алгоритма blastn. Были определены кодирующие последовательности, перекрывающие SNP локусы, охарактеризованы кодируемые белки, домены и возможные функции. Среди выявленных генов-кандидатов были последовательности, контролирующие устойчивость растения к стрессовым воздействиям, метаболизм фитогормонов, устойчивость к заболеваниям, фотосинтез, фолдинг белков, межклеточный транспорт и несколько транскрипционных факторов. Среди них, наиболее вероятными кандидатами для модуляции времени колошения можно считать транскрипционные факторы *WRKY*, *ERF/AP2*, *FHY3/FAR1*, а также ген *ELF4* (*EARLY FLOWERING4*), выявленный путем анализа маркеров из генетических карт, сопоставленных с картой из данного исследования.

3.8 Анализ паттернов суточной экспрессии генов цветения пшеницы

Для того, чтобы изучить взаимодействия нечувствительного к фотопериоду *Ppd-B1a* с другими генами цветения пшеницы, использовали метод количественной ПЦР в реальном времени. Были использованы 21-дневные растения поздно переходящего к колошению ФЧЛ2, рано переходящего к колошению сорта Sonora и почти изогенных линий Ppd-m и Ppd-w, представляющих собой ФЧЛ2 с некоторыми локусами, включая *Ppd-B1a*, интрогрессированными от Sonora.

Результаты анализа суточной экспрессии представлены на рис. 26. *Ppd-B1a*, как и ожидалось, экспрессировался днем у всех исследуемых линий, а ночью только у нечувствительных к фотопериоду. Ген *TaFT1* экспрессировался только у нечувствительных к фотопериоду ранозацветающих форм, что подкрепляется предыдущими исследованиями (Kitagawa et al., 2012; Shaw et al., 2012).

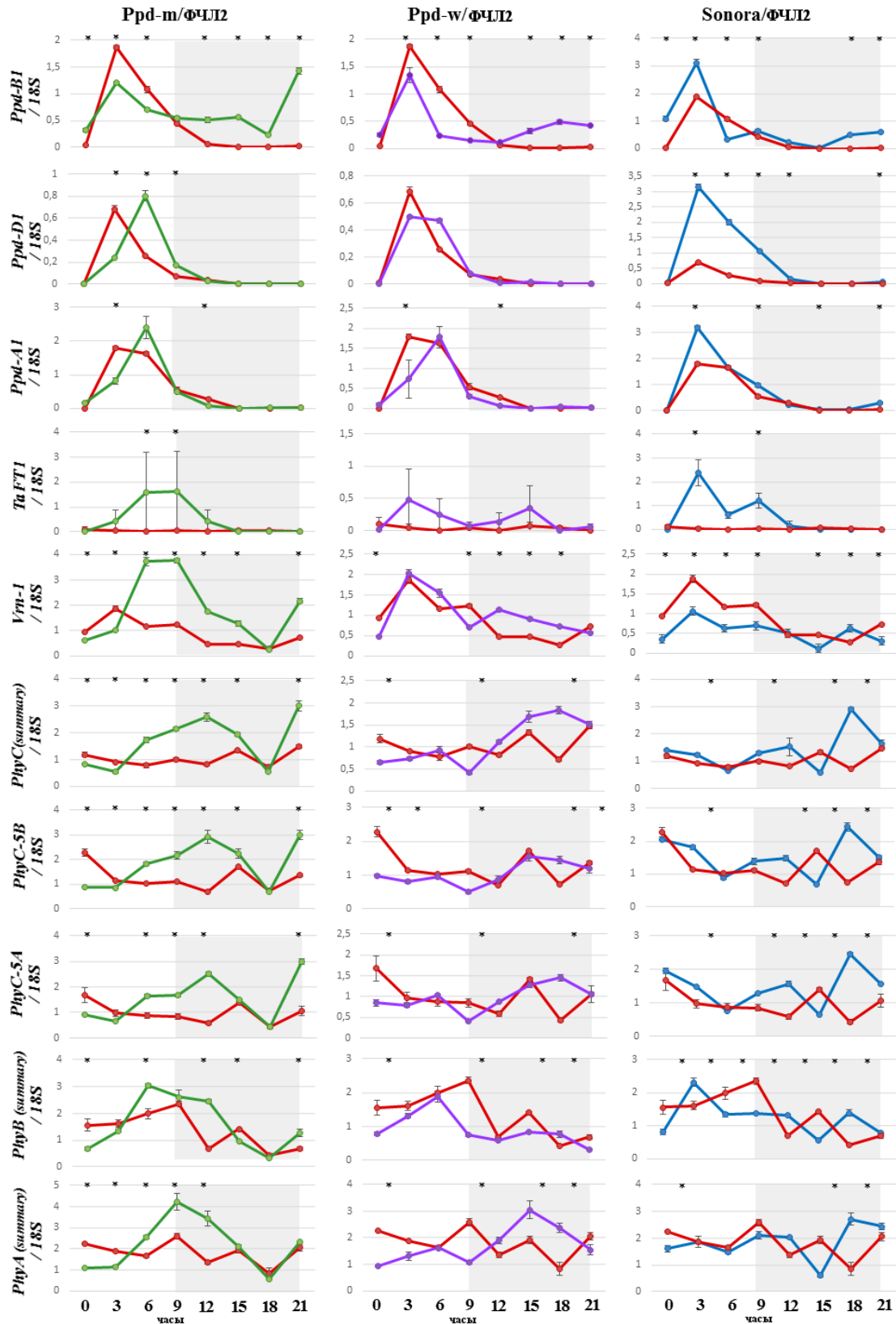


Рис. 26. Паттерны суточной экспрессии генов. Серые области обозначают ночной период (9 – 24 часа) в климатической камере. На графиках представлен относительный уровень экспрессии генов нечувствительных к фотопериоду почти изогенных линий Prd-m (зеленый), Prd-w (фиолетовый) и родительского сорта Sonora (синий) относительно чувствительного к фотопериоду реципиентного родителя ФЧЛ2 (красный). Уровень экспрессии нормирован относительно гена 18S

pPHK. Планки погрешностей обозначают ошибку среднего. Звездочки обозначают значимые ($P < 0.05$) различия, рассчитанные методом one-way ANOVA с последующим тестом Tukey между нечувствительными к фотопериоду Ppd-m, Ppd-w и Sonora относительно чувствительного к фотопериоду ФЧЛ2 в каждой временной точке.

Экспрессия гена *PPD-D1* была выше у Sonora, по сравнению с ФЧЛ2 и линиями. Особенностью экспрессии *PPD-A1* оказался сдвиг пика экспрессии у линий Ppd-m и Ppd-w по сравнению с родительскими формами. У линии Ppd-m сдвиги пиков экспрессии были характерны и для других генов: *PPD-D1*, *TaFT1*, *VRN-1*. Паттерны экспрессии *VRN-1* у линии Ppd-w и сорта Sonora не имели никаких значительных отличий от ФЧЛ2, в то время как у Ppd-m экспрессия данного гена была значительно выше. Уровень экспрессии *PHYC* уменьшался с момента начала светового периода и характеризовался одним или двумя пиками в темновом периоде. Можно наблюдать тенденцию к усилению экспрессии *PHYC* в темновой период у нечувствительных к фотопериоду форм. Паттерны экспрессии генов *PHYB* и *PHYA* также можно описать двумя пиками: один в конце светового периода и один в течение ночи.

Мы проанализировали корреляции паттернов экспрессии генов, участвующих в восприятии светового сигнала (*PHYA*, *PHYB*, *PHYC*) и генов, отвечающих за переход к цветению (*PPD-A1*, *PPD-B1*, *PPD-D1*, *VRN-1*, *TaFT1*) отдельно за дневной и ночной периоды, у чувствительных и нечувствительных к фотопериоду линий (приложения 5 и 6). Паттерны экспрессии фитохромов значимо коррелировали друг с другом, указывая на то, что их экспрессия регулируется одинаковыми факторами. Гены *PPD-1* значимо коррелировали друг с другом ($\rho = 0.55 - 0.85$ у нечувствительных к фотопериоду и $\rho = 0.89 - 0.97$ у чувствительных к фотопериоду линий). Паттерны экспрессии *VRN-1* значимо коррелировали с паттернами экспрессии *PPD-1* генов ($\rho = 0.89 - 0.95$) у ФЧЛ2. Это может означать, что на экспрессию этих генов влияют общие факторы. У нечувствительных к фотопериоду линий паттерн экспрессии *VRN-1* коррелировал также с паттернами экспрессии фитохромов в дневное ($\rho = 0.65 - 0.79$) и ночное время ($\rho = 0.56 - 0.72$). Такая корреляция согласуется с данными (Pearce et al., 2016), где методом высокопроизводительного секвенирования было показано влияние *PHYC* и *PHYB* на *VRN-1*. Была обнаружена значимая корреляция ($\rho = 0.67$) между паттернами

экспрессии *Ppd-B1a* и *PHYC* (*PHYC* суммарно и *PHYC-5B*, *PHYC-5A* индивидуально) в ночной период у нечувствительных к фотопериоду линий.

3.8.1 Паттерны экспрессии *Ppd-B1a* и *PHYC* коррелируют у нечувствительных к фотопериоду линий

Мы обнаружили, что у нечувствительных к фотопериоду линий паттерны экспрессии генов *Ppd-B1a* и *PHYC* (суммарно и по отдельности) значимо коррелировали в темновой период. Экспрессируясь ночью, фитохромы образуют неактивную форму Фкр (фитохром, поглощающий красный свет) (Kendrick & Kronenberg, 1994; Terzaghi & Cashmore, 1995), которая не может влиять на экспрессию других генов. Таким образом, выявленная корреляция должна означать, что *Ppd-B1a*, экспрессируясь ночью, позитивно влияет на экспрессию *PHYC*, а не наоборот. Для *PHYA* можно наблюдать такую же тенденцию, но значимых корреляций обнаружено не было.

In silico анализ промоторной области генов фитохромов, выявил сайты связывания регуляторов ответа Response Regulators (TFmatrixID_0348 для ARR2, RR2 и TF_motif_seq_0268 для ARR1AT) и псевдо-регуляторов ответа Pseudo-Response Regulators (TF_motif_seq_0252 для APRR4), которые предполагают возможность регуляции такими псевдо-регуляторами ответа, как *PPD-1* гены. Другие выявленные сайты связывания для таких транскрипционных факторов, как *EPR1/RVE7*, *POC1/PIF3*, *FHY3/FAR1*, *SORLIP2AT*, *SORLIP1AT*, предполагают возможность опосредованной саморегуляции фитохромов. Были также обнаружены TFBSs, ассоциированные с цветением и фотопериодической регуляцией для таких факторов, как *GATA12*, *AtHB33*, *AtDOF1*, *SPL3*, *TEM1*, *STM*, *GBOX10NT*, *BS1EGCCR*, *IBOXCORE*.

Таким образом, данные по корреляции экспрессии, анализ промотора *PHYC* позволяют предположить, что *Ppd-B1a*, экспрессируясь в темновой период, может позитивно регулировать экспрессию *PHYC*.

3.8.2 Корреляции экспрессии *TaFT1*

Паттерн экспрессии *TaFT1* коррелировал с *PPD-1* генами у нечувствительных к фотопериоду линий, у ФЧЛ2 *TaFT1* не экспрессировался. В промоторе *TaFT1* были выявлены элементы, ассоциированные с регуляцией регуляторами ответа Response Regulators и псевдо-регуляторами ответа Pseudo-Response Regulators *ARR14*, *RR14*, *PRR4*, *APRR2*, *ARR1*, *RR1* и сайт связывания *ARR1AT*. Данные элементы представляют собой вероятные сайты для регуляции экспрессии *TaFT1* посредством продуктов *PPD-1* генов.

Кроме того, значимые корреляции были обнаружены между паттернами экспрессии *TaFT1* и *PHYC-5A* ($\rho=0.75$), *TaFT1* и *PHYC-5B* ($\rho=0.8$) в световой период. Ночью уровень экспрессии *TaFT1* был очень низким, а фитохромы в темноте образуют неактивную форму. Таким образом, можно предположить, что фитохромы влияют на экспрессию *TaFT1*. Поэтому был проведен биоинформатический анализ промоторов *TaFT1*, который позволил обнаружить сайты для связывания транскрипционных факторов, ассоциированных с регуляцией фитохромами: *PIL5*, *POC1*, *PIF3*, *PAP3* (bHLH/bZIP), *FHY3/FAR1* (FAR1), *VOZ2* (VOZ), *SORLIP1AT*, *SORLIP2AT*, *SORLREP5AT*, *SORLIP5AT*, *RE1ASPHYA3*. Обнаруженная корреляция экспрессии и анализ промотора *TaFT1* позволяет предположить, что фитохром является еще одним регулятором экспрессии такого важного для цветения пшеницы гена, как *TaFT1*.

3.8.3 Особенности паттернов экспрессии генов цветения у линий с нечувствительным к фотопериоду аллелем *Ppd-B1a*

У линии *Ppd-m* пики экспрессии многих генов, но не *Ppd-B1a*, были сдвинуты. Следует заметить, что линии *Ppd-m* и *Ppd-w*, хотя обе содержат *Ppd-B1a* от *Sonora*, достоверно отличаются по времени цветения на 4 дня (*Ppd-m* зацветает раньше). У *Ppd-m* есть две дополнительные интрогрессии от *Sonora*, которые не были обнаружены у *Ppd-w*: на хромосоме 4D в области маркера *Xgwm165* и в прицентромерной области хромосомы 5B (маркеры *Xbarc74*, *Xgwm67*, *Xgwm371*, *Xgwm213*). Локусы количественных признаков (QTL) для времени колошения были ранее идентифицированы как на 4D, так и на хромосомах 5B (Griffiths et al., 2009;

Hanocq et al., 2004; Pshenichnikova et al., 2015). На 4D QTL был обнаружен в области между маркерами *wPt8836* и *Xgwm165* (Griffiths et al., 2009; Pshenichnikova et al., 2015). Гены, локализованные в данной области и ассоциированные с регуляцией времени колошения, неизвестны. На хромосоме 5B был выявлен локус времени колошения, ассоциированный с маркером *Xgwm371* (Hanocq et al., 2004).

В ходе данной работы на материале линий популяции RICL от скрещивания CS x CS-5Bdic был выявлен локус в прицентромержной области хромосомы 5B, ассоциированный с различием по времени колошения. Для данного локуса были выявлены гены-кандидаты, *FHY3/FAR1*, *AP2/ERF*, *WRKY* и *ELF4*.

У линии Ppd-m интрогрессия от Sonora на хромосоме 5B располагается в области, содержащей *FHY3/FAR1*, а хромосома 5B линии Ppd-w полностью унаследована от ФЧЛ2. Таким образом, *FHY3/FAR1* является хорошим кандидатом для того, чтобы объяснить разницу во времени колошения линий Ppd-m и Ppd-w.

Чтобы проверить, есть ли разница в паттернах экспрессии гена *FHY3/FAR1* у линий Ppd-m и Ppd-w был проведен анализ суточной экспрессии. Было показано, что экспрессия данного гена была выше у Ppd-m в 6 – 9 часов после рассвета (рис. 27). Паттерны экспрессии *FHY3/FAR1* значимо коррелировали с паттернами экспрессии фитохромов и *VRN-1*. В темновой период *FHY3/FAR1* коррелировал с *Ppd-B1* нечувствительных к фотопериоду линий (“Ppd-m”, “Ppd-w” и Sonora).

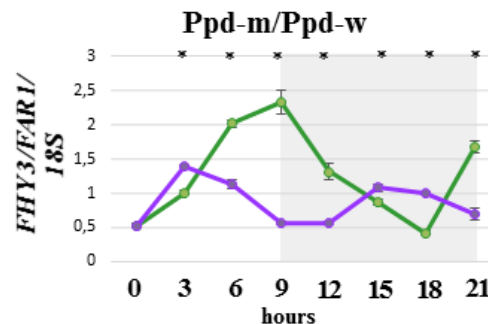


Рис. 27. Паттерны суточной экспрессии *FHY3/FAR1*. Серые области обозначают ночной период (9 – 24 часа) в климатической камере. На графиках представлен относительный уровень экспрессии генов нечувствительных к фотопериоду почти изогенных линий Ppd-m (зеленый) и Ppd-w (фиолетовый). Уровень экспрессии нормирован относительно гена 18S рРНК. Планки погрешностей обозначают ошибку среднего. Звездочки обозначают значимые ($P < 0.05$) различия.

Глава 4. Обсуждение

4.1 Лocus на хромосоме 2В, ускоряющий время колошения на коротком дне, несет аллель *Ppd-B1a*

Основными детерминантами раннего колошения у мягкой пшеницы являются гены потребности яровизации и гены чувствительности к фотопериоду (длине дня). Поэтому у исследуемых почти изогенных линий *Ppd-m* и *Ppd-0^m*, *Ppd-w* и *Ppd-0^w* и их родительских сортов Sonora (раннее колошение) и ФЧЛ2 (позднее колошение) был определен аллельный состав данных генов. Между сестринскими линиями не было выявлено различий по генам *VRN-1*. Все три гомеологичных гена присутствовали в линиях в доминантном состоянии. Из этого можно сделать вывод, что гены чувствительности к яровизации не влияют на различия по времени колошения на коротком дне у исследуемых линий (рис. 13). Анализ также показал, что сорта и линии не содержат описанных ранее доминантных аллелей генов *PPD-1*, характеризующихся структурными изменениями последовательности в промоторной области (делеции или инсерции). Таким образом, данные изменения в промоторной области не могли быть причиной различий исследуемых линий по времени колошения.

SSR-генотипирование с использованием репрезентативного количества маркеров позволило установить, что различия по времени колошения у почти изогенных линий, полученных от скрещивания сорта Sonora и ФЧЛ2, ассоциированы с интрогрессией на хромосоме 2В между маркерами *Xgwm148* и *Xgwm388*, унаследованной от нечувствительного к фотопериоду сорта Sonora. В данной области локализован ген *PPD-B1* (Mohler et al., 2004).

Ген *PPD-B1* рано переходящих к колошению на коротком дне линий *Ppd-m*, *Ppd-w* и родительского сорта Sonora не содержал инсерции 308 п.н., характерной для доминантного аллеля, описанного Nishida et al. (Nishida, Yoshida, et al., 2013).

С использованием ПЦР в реальном времени, было показано, что линии *Ppd-m*, *Ppd-w* и Sonora характеризуются увеличенным числом копий гена *Ppd-B1*, данный аллель был обозначен нами как *Ppd-B1a^{cnv}*. Межкопийная область данного аллеля характеризуется той же последовательностью, что и у сортов Sonora 64, Timstein и

C591. Тем не менее, секвенирование *Ppd-B1a^{cnv}* аллеля показало, что он отличается от аллелей сортов Sonora 64, Timstein и C591 однонуклеотидной делецией в промоторной области. Были также обнаружены несколько SNP. SNP в третьем экзоне (+546 п.н.) отличал исследуемый аллель от аллеля сорта Chinese Spring, для которого также характерно увеличенное число копий гена. SNP (-630 п.н.) позволял различать чувствительные и нечувствительные к фотопериоду линии. Этот SNP (“G”) ранее был обнаружен у сортов Recital, Paragon и Winter-Abukumawase (Beales et al., 2007; Díaz et al., 2012). Интересно заметить, что для родительского сорта Sonora и всех остальных тетра- и гексаплоидных пшениц в данной позиции характерен нуклеотид “C”. Таким образом, “G” в этой позиции встречается редко (4 сорта, включая ФЧЛ2). Тем не менее, никакой ассоциации между чувствительностью к фотопериоду и данным SNP показано не было (Beales et al., 2007; Díaz et al., 2012; Nishida, Yoshida, et al., 2013).

Таким образом, мы показали, что причиной нечувствительности к фотопериоду, и, как следствие, раннего колошения линий Ppd-m и Ppd-w является доминантный аллель *Ppd-B1a^{cnv}*, а не изменения в структуре гена. Данный аллель впервые обнаружен у линий, культивируемых на территории России.

Линии Ppd-m и Ppd-w, несущие доминантный аллель *Ppd-B1a^{cnv}*, переходят к колошению немного позднее линий, несущих доминантный аллель *Ppd-D1a* (Киселева и др., 2014). Такие различия могут представлять интерес для селекционеров, поскольку они дают дополнительную возможность модулировать время колошения у новых сортов в зависимости от района возделывания. Однако следует учитывать то обстоятельство, что нечувствительность к фотопериоду, обусловленная не нуклеотидным изменением последовательности *PPD-B1*, а увеличением числа копий данного гена, может не всегда воспроизводиться у сорта в процессе его культивирования. Причина этого – возможная изменчивость (увеличение или сокращение) числа копий гена в результате рекомбинации (Díaz et al., 2012). Тем не менее, сорта с доминантными *Ppd-B1a* аллелями, характеризующиеся увеличенным числом копий, широко возделывают по всему миру. Так, такие аллели обнаружены у 17 % сортов мягкой пшеницы, культивируемых в Европе (Северная и Южная), у 61 % сортов Китая и Японии, у 17

% Африканских сортов, у 26 % сортов Северной и 57 % Южной Америки, у 25 % Австралийских сортов (Tibor Kiss et al., 2014; Cane et al., 2013).

4.1.1 Транскрипционные факторы, общие для всех *PPD-1* генов

PPD-B1 является единственным геном семейства *PPD-1*, для которого описаны нечувствительные к фотопериоду аллели, обусловленные увеличением числа копий. Тем не менее, мало что известно о механизмах, лежащих в основе изменения экспрессии данного аллеля.

Ранее было сделано предположение, что делеции в промоторных областях нечувствительных к фотопериоду аллелей *Ppd-A1a* и *Ppd-D1a* обуславливают изменение экспрессии соответствующих генов из-за исчезновения сайта связывания репрессора CHE (CCA1 HIKING EXPEDITION) (Wilhelm et al., 2009). Можно предположить, что нарушение экспрессии аллеля *Ppd-B1a* с увеличенным числом копий является результатом того, что число копий гена увеличивается, а количество репрессора остается неизменным. Но в таком случае наблюдалось бы изменение экспрессии всех генов *PPD-1*. Было показано, что нарушенная экспрессия *Ppd-B1a* с увеличенным числом копий не влияет на экспрессию *Ppd-A1b* и *Ppd-D1b* (Shaw et al., 2012). Таким образом, предположение о роли количества копий *PPD-B1* против количества репрессора можно отвергнуть.

Для того, чтобы выявить возможные факторы, вовлеченные в регуляцию *PPD-B1*, но не *PPD-A1* и *PPD-D1*, были проанализированы промоторные области данных генов для выявления (1) сайтов связывания транскрипционных факторов (TFBSs, Transcription Factor Binding Sites) общих для всех генов *PPD-1* и (2) сайтов связывания транскрипционных факторов, специфичных для *PPD-B1* гена.

На основании природы воспринимаемого ими сигнала, их можно разделить на три группы: регулируемые фитохромами, циркадными ритмами или светом. Подробное описание этих транскрипционных факторов представлено в табл. 2.

Недавно было показано, что *PHYC* и *PHYB* регулируют экспрессию *PPD-1* (Chen et al., 2014; Pearce et al., 2016). Эти гены являются важными регуляторами фотопериодической чувствительности и цветения у пшеницы (Chen et al., 2014; Pearce et al., 2016) и ячменя (Hanumappa et al., 1999; Szucs et al., 2006; Nishida,

Ishihara, et al., 2013). Локализация *PHYA* на хромосомах 4 группы была выявлена (Ogihara et al., 1994), но никаких взаимосвязей данного локуса с временем цветения описано не было. Тем не менее, *PHYA* является важным регулятором времени цветения у многих видов растений, например у арабидопсиса (Johnson et al., 1994; Neff & Chory, 1998). Таким образом, изучение последовательностей и функций *PHYA* у злаков может помочь в изучении механизмов фотопериодической чувствительности и цветения. Исходя из данных, полученных в ходе анализа промоторной области генов *PPD-1*, можно предположить, что экспрессия этих генов регулируется фитохромами посредством таких транскрипционных факторов, как *PIF3*, *PIL5*, *FHY3/FAR1*, *RVE7/EPR1*, *VOZ2* и некоторыми неизвестными факторами с идентифицированными сайтами связывания, такими как *SORLIP2AT*, *SORLIP1AT*, *RE1ASPHYA3*.

Было сделано предположение, что гены *PPD-1* находятся также под контролем циркадного осциллятора как у пшеницы (Chen et al., 2014), так и у ячменя (Faure et al., 2012). На данный момент гены циркадных ритмов пшеницы изучены слабо и единственный ген, для которого показано влияние на экспрессию *PPD-1* – *WPCL* (Mizuno et al., 2016). Нами были идентифицированы сайты связывания транскрипционных факторов, которые могут быть вовлечены в регуляцию *PPD-1* генов циркадными ритмами: *RAV1*, *TEM1*, *TEM2*, *RVE1*, *CCA1*, *LHY*, *CHE*.

Активацию генов *PPD-1* фитохромом *PHYC* считают светозависимой (Song et al., 2015). Возможно этот процесс опосредован такими транскрипционными факторами, как *GATA2*, *GATA12*, *GT-1*, *AtMYC2* и некоторыми неизвестными факторами с идентифицированными сайтами связывания, такими как *BOXIIPCCHS*, *TBOXATGAPB*, *IBOXCORENT*, *LREBOXIIPCCHS1*, *IBOXCORE*.

4.1.2 Специфичные для гена *PPD-B1* транскрипционные факторы и их вероятное участие в регуляции экспрессии данного гена

Выявленные транскрипционные факторы, ассоциированные с временем колошения или циркадными ритмами и специфичные для гена *PPD-B1*, сайты связывания которых были обнаружены, принадлежали к следующим семействам: AP2, C2H2, MADS box/MIKC. Также были идентифицированы сайты связывания,

транскрипционные факторы для которых не были установлены: RBCSGBOXPS, REBETALGLHCB21, LEAFYATAG, SORLIP5AT, MNF1ZMPPC1. Подробное описание этих транскрипционных факторов приведено в табл. 4.

Среди транскрипционных факторов, ассоциированных со временем цветения, были гены из семейств *MADS-box* и *MIKC*. Некоторые из них являются активаторами цветения, другие – репрессорами. Так, например, *AGL19*, *AGL6* и *AGL14* стимулируют переход к цветению (Schönrock et al., 2006; Koo et al., 2010; Pérez-Ruiz et al., 2015). Но большая часть *MADS box* транскрипционных факторов – *FLC*, *MAF2*, *AGL69*, *AGL68*, *FLM*, *AGL15* и *AGL18* – негативно регулируют переход от вегетативной к генеративной фазе развития (Michaels & Amasino, 2001; Scortecci et al., 2001; Ratcliffe et al., 2003; Kim & Sung, 2010; Gu et al., 2009; Gu et al., 2013; Scortecci et al., 2003; Adamczyk et al., 2007). Было показано, что *FLC*, *MAF3* (*AGL70*), *FLM* (*MAF1*, *AGL27*), *MAF2* (*AGL31*) и *MAF4* (*AGL69*) взаимодействуют друг с другом для образования ядерного комплекса, ответственного за подавление цветения (Gu et al., 2013).

Вероятным сайтом связывания большинства этих транскрипционных факторов, за исключением *AGL15*, является одна и та же последовательность, TFmatrixID_0503. Мотив TFmatrixID_0503 является сайтом связывания *MADS* транскрипционных факторов не только у арабидопсиса, но также и у брахиподиума, риса и сорго. Было показано, что эти факторы вовлечены в механизмы перехода к цветению и определению времени цветения у риса (Lee et al., 2004; Ryu et al., 2009). Например, *OsMADS50* стимулирует цветение, а *OsMADS56* является негативным регулятором перехода к цветению (Ryu et al., 2009). Другими модуляторами цветения риса из данного семейства являются *OsMADS7* и *OsMADS8* (Kang et al., 1997).

У пшеницы *MADS*-гены тоже были идентифицированы (Zhao et al., 2006). Некоторые из них являются гомологами *MADS* генов риса *OsMADS8* (*OsMADS24*) и *OsMADS7* (*OsMADS45*), которые могут влиять на время цветения (Shitsukawa et al., 2007). Тем не менее, нет никакой информации о сайтах связывания *MADS*-генов у пшеницы, так что можно только предполагать возможность их связывания с такими же сайтами, как у арабидопсиса и риса.

Сопоставляя данные о регуляторных элементах в промоторе гена *PPD-B1* с данными об общих транскрипционных факторах гомеологичных *PPD-1* генов, можно предположить, что основную роль в нарушении экспрессии *Ppd-B1* с увеличенным числом копий выполняют *MADS*-гены. Многие из этих генов являются репрессорами цветения. Возможно, *Ppd-B1a* с увеличенным числом копий продолжает экспрессироваться в темновой период из-за того, что количество специфичного для данного гена репрессора уменьшается в пересчете на одну копию гена.

4.2 Локус в прицентромерной области хромосомы 5В, влияющий на время колошения, и гены-кандидаты для данной области

Время колошения Chinese Spring и линии Chinese Spring с хромосомой 5В, замещенной на хромосому 5В от *T. dicoccoides* при развитии без яровизации значительно отличалось. Для объяснения данного различия, были проанализированы известные гены, локализованные на данной хромосоме, которые могут влиять на время колошения. Был проведен QTL-анализ на основании генетической карты хромосомы 5В (разработанной с использованием SNP-маркеров) и фенотипического анализа популяции RICL.

Распределение линий по времени перехода к колошению (рис. 23) может говорить о количественном характере признака. Поскольку различия по времени колошения наблюдались только у неяровизированных растений, можно предположить, что эти различия могут быть связаны с генами системы ответа на яровизацию.

На время колошения мягкой пшеницы оказывают сильное влияние гены потребности в яровизации (Worland, 1996). Тем не менее, оценка уровня экспрессии (Kiseleva et al., 2016) и QTL анализ показали, что *VRN-1* не связан с различиями по времени колошения популяции от скрещивания CS x CS-5Bdic.

Другой локус, расположенный на хромосоме 5В и влияющий на время колошения – ген *PHY-C* (*PHYTOCHROME C*), кодирующий рецептор света фитохром С (Chen et al., 2014). На хромосоме данный ген локализован близко к *VRN-*

B1 (Wiebe et al., 2010), и связи данного локуса с вариацией времени колошения изучаемых линий не было обнаружено по результатам QTL-анализа.

В работе Zanke et al. (Zanke et al., 2014) было показано, что маркер *Kukri_c10016_369* на хромосоме 5В ассоциирован с временем колошения. Этот локус, гомологичный гену *Hd6* риса, вносит значительный вклад в формирование времени колошения пшеницы (Zanke et al., 2014). Маркер *Kukri_c10016_369* оказался полиморфным у изучаемых линий, на генетической карте он локализован в позиции 33.4 сМ, рядом с *VRN-B1*, расположенным в позиции 33.4 сМ. Никаких значимых QTL в этом районе также не было обнаружено.

Таким образом, варьирование времени колошения, наблюдаемое у растений, не подвергнутых яровизации, не было связано с генами *VRN-B1*, *PHYC* и *Hd6*.

Кроме рассмотренных выше генов *VRN-B1*, *PHYC* и *Hd6*, на хромосоме 5В были выявлены и другие локусы, которые могут влиять на время колошения (Milec et al., 2014). Это локусы, ассоциированные с маркерами *ACA.CTA13/CTCG.CAT7* (Marza et al., 2006), *Xwmc745–Xcfa21215B.2* (Griffiths et al., 2009), *Xgwm371* (Hanocq et al., 2004), *wPt-9814* и *wPt-4551* (Le Gouis et al., 2012).

Для всех этих районов, расположенных на длинном плече хромосомы 5В (5BL), была показана связь со временем колошения, но большинство из них не были связаны с прицентромерным районом. Только локус *eps*, ассоциированный с маркером *Xwmc73* (Tóth et al., 2003), локализован в прицентромерной области 5BL. Но никаких генов-кандидатов для него не было предложено. *Earliness per se* представляет собой разницу по времени колошения растений, чьи потребности в яровизации и фотопериоде были удовлетворены (Kato & Wada, 1999). В нашем исследовании разница наблюдалась у неяровизированных растений, откуда можно предположить, что данный признак определяется изменениями в механизмах инициации цветения. Кроме того, выявленный QTL локализован в прицентромерной области как длинного, так и короткого плеча хромосомы 5В.

Для того, чтобы выявить последовательности на хромосоме 5В, влияющие на формирование времени колошения, было проведено сравнение последовательностей маркеров из выявленной области QTL относительно геномов нескольких видов растений – брахиподиума, риса, ячменя, мягкой пшеницы, пшеницы Урарту и эгилопса Тауши. Были выявлены последовательности, вовлеченные в процессы

адаптации к стрессу, метаболизму фитогормонов, цитокинезу, межклеточному транспорту, фолдингу белков и фотосинтезу.

Наиболее вероятными кандидатами на роль гена, влияющего на время колошения, оказались 4 последовательности – транскрипционные факторы *WRKY*, *ERF/AP2*, *FHY3/FAR1* и ген *ELF4*.

Возможной причиной задержки времени колошения у линии с интрогрессией хромосомы 5В *T. dicoccoides* может быть различие происхождения структурных генов, влияющих на время колошения, и транскрипционных факторов, регулирующих активность данных генов. Ранее было установлено, что изменение экспрессии генов является характерным для межвидовых гибридов. Например, ослабленная экспрессия интрогрессированных генов была показана для *F3h* (Khlestkina et al., 2009) и для генов устойчивости к алюминию (Gustafson & Ross, 1990) у пшенично-ржаных гибридов. У линий пшеницы с интрогрессиями от ячменя также было выявлено снижение экспрессии множества генов (Taketa & Takeda, 1997).

4.2.1 *WRKY* может контролировать инициацию цветения

Обнаруженная последовательность Traes_5BL_17A712C94.2 характеризовалась протяженностью 2.84 т.п.н. и содержала 6 вероятных экзонов (рис. 28). Был выявлен *WRKY*-домен (*WRKYGQK* мотив – по названиям аминокислот), характерный для генов *WRKY*.



Рис. 28. Структура последовательности Traes_5BL_17A712C94.2 (Ensemble Plants 2015). Прямоугольники обозначают экзоны. Закрашенная область обозначает кодирующую последовательность.

У растений *WRKY* является ключевым регулятором многих процессов, включая ответ на биотический и абиотический стрессы, старение, покой и прорастание семян, развитие трихом, участие в сигналинге АБК (абсцизовой кислоты) и регулирование устойчивости к засухе (Rushton et al., 2012; Johnson et al., 2002; Wang et al., 2007; Luo, Sun, et al., 2013; Luo, Xi Bai, et al., 2013).

У сои транскрипционные факторы семейства *WRKY* контролируют начало цветения. *GsWRKY20* ускоряет цветение растений путем регуляции генов цветения и генов идентичности флоральных меристем (Luo, Sun, et al., 2013). Для *MIWRKY12* мискантуса также была установлена роль в контроле цветения (Yu et al., 2013).

Тем не менее, мало известно о строении и функциях генов *WRKY* у мягкой пшеницы (*T. aestivum*) (Zhu et al., 2013). Было показано, что гены *WRKY* мягкой пшеницы участвуют в увядании листьев и реакции на абиотический стресс (Zhu et al., 2013), устойчивости растений к начальным стадиям оледенения (Talanova et al., 2009). Белки *WRKY* играют важную роль в АБК-сигналинге, важном как для устойчивости к стрессовым факторам, так и для развития растений (Xu et al., 2014). Гены *TaWRKY* участвуют в ответе на абиотические стрессовые воздействия АБК-зависимым способом (Zhu et al., 2013; WANG et al., 2013). Тем не менее, никакой взаимосвязи *WRKY* генов с колошением у пшеницы выявлено не было.

4.2.2 *ERF/AP2* вовлечен в формирование структур цветка

Обнаруженная последовательность Traes_5BL_63E444E80.2 характеризовалась протяженностью 2.93 т.п.н. и содержала 4 экзона (рис. 29). Были выявлены домены, характерные для генов *AP2* (*Apetala2*) / *ERF* (*Etilen Response Factor*).

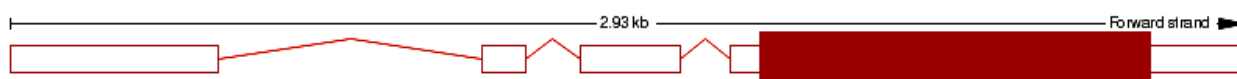


Рис. 29. Структура последовательности Traes_5BL_63E444E80.2 (Ensemble Plants 2015). Прямоугольники обозначают экзоны. Закрашенная область обозначает кодирующую последовательность.

Известно, что гены семейства *ERF/AP2* вовлечены в реакцию на засуху, засоление, изменение температур, устойчивость к заболеваниям и контроле времени цветения (Yamaguchi-Shinozaki & Shinozaki, 2006; Zhuang et al., 2009). *AP2* арабидопсиса является наиболее хорошо охарактеризованным геном этого семейства. *AP2* кодирует транскрипционный фактор, вовлеченный в формирование флоральных меристем (Irish & Sussex, 1990), определение идентичности органов цветка (Kunst et al., 1989) и регуляцию экспрессии гомеостатических генов цветка (Drews et al., 1991; Mandel et al., 1992) у арабидопсиса (Kim et al., 2006).

4.2.3 *FHY3/FAR1* участвует в передаче сигнала от фитохромов

Обнаруженная последовательность Traes_5BS_BCC406654.2 характеризовалась протяженностью 3.17 т.п.н. и содержала 4 экзона (рис. 30). Были выявлены домены, характерные для генов *FHY3/FAR1*.

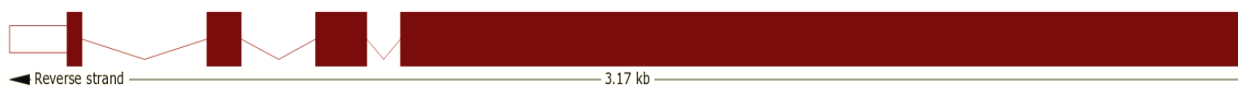


Рис. 30. Структура последовательности Traes_5BS_BCC406654.2 (Ensemble Plants 2015). Прямоугольники обозначают экзоны. Закрашенная область обозначает кодирующую последовательность.

FHY3 и *FAR1* являются транскрипционными факторами, произошедшими от древних транспозаз. Известно, что *FHY3* и *FAR1* участвуют в PHYA-сигналинге у высших растений (G. Li et al., 2011), а PHYA (фитохром А) индуцирует цветение у арабидопсиса (Johnson et al., 1994; Neff & Chory, 1998). Была также показана значимая роль *FHY3* в регуляции циркадных ритмов и контроле времени цветения через регуляцию *ELF4* (*EARLY FLOWERING4*) (G. Li et al., 2011). Позднее было подтверждено, что *FHY3* и *FAR1* интегрируют световой сигнал в циркадные ритмы и регулируют деление хлоропластов прямым воздействием на *ELF4* и *ACCUMULATION AND REPLICATION OF CHLOROPLASTS5* (*ARC5*) (Limin & Fowler, 2006; G. Li et al., 2011; Ouyang et al., 2011). *In silico* анализ цис-элементов риса показал, что *FAR1/FHY3* вовлечен в фотопериодический ответ, обусловленный регуляцией PHYA (Mongkolsiriwatana et al., 2009).

4.2.4 *ELF4*, ген циркадных ритмов растений

Обнаруженная последовательность Traes_5BL_EC1F3715B1.2 характеризовалась протяженностью 1.33 т.п.н. и содержала 1 экзон (рис. 31). Был выявлен домен DUF13 (Domen of Unknown Function), характерный для гена *ELF4* (*EARLY FLOWERING4*).

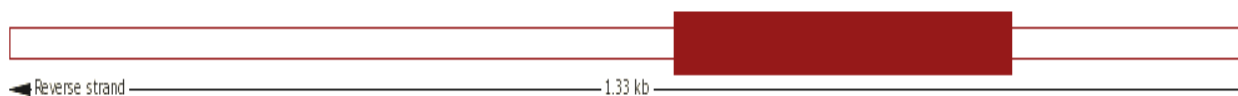


Рис. 31. Структура последовательности Traes_5BL_EC1F3715B1.2 (Ensemble Plants 2015). Прямоугольники обозначают экзоны. Закрашенная область обозначает кодирующую последовательность.

Для арабидопсиса было показано, что *ELF4* является важным компонентом «вечернего комплекса» *ELF4-ELF3-LUX*, генов циркадных ритмов, экспрессирующихся в вечерние часы. *ELF4* предотвращает ассоциацию данного комплекса с другими белками, такими как *CRB* и *EFLs* (Huang et al., 2016). Кроме того, было показано, что мутанты *elf4* арабидопсиса характеризуются нарушением ритмичности экспрессии генов циркадных часов (Herrero et al., 2012). У ячменя был обнаружен ген *HvELF4-likeA*, относящийся к семейству *ELF4* (Calixto et al., 2015), мутация по которому у арабидопсиса приводит к такому же фенотипу, как и мутация по *ELF4*.

Таким образом, нами впервые были описаны гены-кандидаты, ассоциированные с различием по времени колошения, и локализованные в прицентромерной области хромосомы 5В.

4.3 Новые данные о взаимодействии генов времени колошения по результатам оценки их паттернов суточной экспрессии

Для изучения взаимодействий генов колошения пшеницы был проведен анализ экспрессии генов фотопериодической чувствительности, генов восприятия света и генов трансдукции сигнала.

Были проанализированы корреляции между паттернами экспрессии генов, вовлеченных в рецепцию света (*PHYA*, *PHYB*, *PHYC*) и генами, влияющими на переход к цветению (*PPD-A1*, *PPD-B1*, *PPD-D1*, *VRN-1*, *TaFT1*) по отдельности в световой и темновой периоды у чувствительных и нечувствительных к фотопериоду линий. Экспрессия *TaFT1* коррелировала с экспрессией генов *PPD-1* у нечувствительных к фотопериоду линий, а у родительской линии ФЧЛ2 ген *TaFT1* не экспрессировался совсем. Биоинформатический анализ промоторов *TaFT1* обнаружил несколько сайтов связывания транскрипционных факторов семейств RR (Response Regulator) и PRR (Pseudo Response Regulator), к которому относятся гены *PPD-1*. Таким образом, можно предположить, что некоторые из этих сайтов связывания могут быть вероятными мишенями для регуляции экспрессии *TaFT1* генами *PPD-1*.

Значимые корреляции были обнаружены также между паттернами экспрессии *TaFT1* и *PHYC-5A*, *TaFT1* и *PHYC-5B* в светлое время. В темновой же период уровень экспрессии *TaFT1* был низким, а фитохромы ночью неактивны. Кроме того, в промоторе *TaFT1* были обнаружены последовательности сайтов связывания транскрипционных факторов, ассоциированных с регуляцией фитохромами. Ранее было показано, что растения, мутантные по всем трем генам *PPD-1*, хотя и с задержкой, но переходят к цветению и экспрессия *TaFT1* у них сохраняется (Shaw et al., 2013). Таким образом, данные о корреляции паттернов экспрессии и анализ промоторной области *TaFT1* позволяет сделать предположение, что фитохромы также могут регулировать экспрессию *TaFT1*.

Была выявлена значимая корреляция между *Ppd-B1a* и *PHYC* (*PHYC* суммарный и *PHYC-5B* и *PHYC-5A* по отдельности) в течение ночного периода у нечувствительных к фотопериоду линий. Фитохромы, экспрессируясь ночью (в темновой период), образуют неактивные молекулы Фкр (фитохром, с максимумом поглощения в красной области спектра) (Kendrick & Kronenberg, 1994; Terzaghi & Cashmore, 1995), которые не могут влиять на экспрессию других генов. Таким образом, выявленная корреляция, вероятнее всего, означает, что *Ppd-B1a*, экспрессируясь в темновой период, положительно влияет на экспрессию *PHYC*, а не наоборот. Для *PHYA* была отмечена такая же тенденция, но значимых корреляций выявлено не было. Поскольку *Ppd-1b* дикого типа (чувствительные к фотопериоду) не экспрессируются в темновой период, они не могут влиять на экспрессию *PHYC*. Возможно, *Ppd-1b* и оказывают влияние на экспрессию *PHYC* днем, но, вероятнее всего, деградация мРНК *PHYC* нивелирует этот возможный эффект.

Ранее было показано, что линии, несущие нечувствительные к фотопериоду аллели *Ppd-1a* (*Ppd-D1a* или *Ppd-B1a*) содержат увеличенное количество белка фитохрома по сравнению с сестринскими линиями, несущими все рецессивные *Ppd-1b* аллели (Koshkin et al., 2004). Таким образом, можно предположить, что аллели *Ppd-1a* могут напрямую или опосредованно влиять на экспрессию *PHYC*. Чтобы подкрепить это предположение, были *in silico* проанализированы последовательности генов *PHYC* для обнаружения вероятных сайтов связывания *PPD-1*.

Были выявлены сайты связывания RR (TFmatrixID_0348 для ARR2, RR2; и TF_motif_seq_0268 для ARR1AT) и PRR (TF_motif_seq_0252 для APRR4), которые, возможно, являются мишенями для таких регуляторов, как *PPD-1* гены. Кроме того, некоторые из обнаруженных сайтов относились к регуляции фитохромами (*EPR1/RVE7*, *POC1/PIF3*, *FHY3/FAR1*, *SORLIP2AT*, и *SORLIP1AT*), что предполагает возможность саморегуляции. Некоторые другие сайты связывания были ассоциированы с цветением и фотопериодической регуляцией: *GATA12*, *AtHB33*, *AtDOF1*, *SPL3*, *TEM1*, *STM*, *GBOX10NT*, *BS1EGCCR* и *IBOXCORE*.

Взятые вместе, данные о корреляции паттернов экспрессии *Ppd-B1a* и *PHYC*, анализ промотора *PHYC* и данные о том, что линии с нечувствительными к фотопериоду аллелями *Ppd-1a* характеризуются увеличенным количеством белка фитохрома (Koshkin et al., 2004), позволяют предположить, что *Ppd-B1a*, экспрессируясь ночью, может положительно регулировать экспрессию *PHYC*.

4.4 Вклад локуса, расположенного в прицентромерной области хромосомы 5B, во взаимодействие *PHYC* и *PPD-B1*

В ходе изучения почти изогенных линий от скрещивания раннего сорта Sonora и позднего ФЧЛ2 было отмечено, что хотя обе линии, Ppd-m и Ppd-w, несут интрогрессию на хромосоме 2B от Sonora, и, таким образом, содержат доминантный *Ppd-B1a^{cnv}*, обуславливающий нечувствительность к фотопериоду, всё же значительно отличаются по времени колошения. Линия Ppd-m переходила к колошению на 4 дня раньше Ppd-w. SSR-генотипирование показало, что данные линии отличаются локусом в прицентромерной области хромосомы 5B. В то же время, анализ популяции замещенных рекомбинантных инбредных линий, отличающихся по времени колошения, позволил выявить QTL, локализованный как раз в прицентромерной области хромосомы 5B.

Для данного локуса были охарактеризованы гены-кандидаты *FHY3/FAR1*, *AP2/ERF*, *WRKY* и *ELF4*. Сайт связывания *FHY3/FAR1* был обнаружен в промоторах таких генов, как *PPD-1*, *PHYC* и *TaFT1*. У линии Ppd-m интрогрессия от Sonora на хромосоме 5B располагается точно в области, содержащей *FHY3/FAR1*, а хромосома 5B линии Ppd-w, зацветающей на 4 дня позднее, полностью унаследована от ФЧЛ2.

Таким образом, *FHY3/FAR1* является хорошим кандидатом для того, чтобы объяснить разницу во времени колошения линий. В ходе данной работы было показано, что экспрессия *FHY3/FAR1* была выше у линии *Ppd-m* в 6 – 9 часов после рассвета, откуда можно предположить, что данная последовательность может быть вовлечена в регуляцию времени колошения.

Известно, что *FHY3/FAR1* вовлечен в передачу сигнала от фитохромов у арабидопсиса и риса (J. Li et al., 2011; Mongkolsirawatana et al., 2009) и контроль накопления фитохромов опосредованно через *FHY1* у арабидопсиса (Genoud et al., 2008). Тем не менее, никаких данных о функциях *FHY3/FAR1* у пшеницы пока нет.

У пшеницы фитохромы (PHYB и PHYC) положительно влияют на экспрессию *PPD-1* генов (Chen et al., 2014; Pearce et al., 2016), и, как следствие, индуцируют время колошения. Можно предположить, что *FHY3/FAR1*, вовлеченный в контроль времени цветения у некоторых видов растений, может принимать участие в этом процессе. В ходе данной работы было сделано предположение о положительном влиянии доминантного аллеля *Ppd-B1a^{cnv}* на экспрессию *PHYC*. Таким образом, полученные данные говорят о вероятной положительной обратной связи между *PHYC* и *Ppd-B1a^{cnv}* с возможным участием *FHY3/FAR1*. Данная гипотеза требует дальнейших исследований и проверки. Используемые в данной работе почти изогенные линии, отличающиеся прицентромерным локусом на хромосоме 5В, являются подходящим материалом для такой работы.

Заключение

С использованием двух генетических моделей выявлены локусы на хромосомах 2В и 5В, ассоциированные с различием по времени колошения. На материале пары почти изогенных линий, полученных от скрещивания рано переходящего к колошению сорта Sonoga и поздно переходящей к колошению линии ФЧЛ2, с помощью SSR-маркирования был выявлен локус на хромосоме 2В, ассоциированный с изучаемым признаком. Более детальный анализ показал, что ген *PPD-B1*, являющийся одним из наиболее значимых регуляторов цветения пшеницы, находится в данном локусе и детерминирует различия линий по фенотипу. Секвенирование данного гена позволило выявить инсерцию/делецию и несколько SNP, отличающих изучаемый аллель от других доминантных аллелей. Методом количественного ПЦР было установлено, что нечувствительный к фотопериоду *Ppd-B1a^{cnv}* характеризуется увеличенным числом копий.

Одним из нерешенных вопросов на сегодняшний день остается вопрос регуляции экспрессии аллеля *Ppd-B1a^{cnv}* с увеличенным числом копий. Известно, что суточные паттерны экспрессии таких аллелей нарушены, они экспрессируются в ночной период, в отличие от чувствительных к фотопериоду аллелей, для которых экспрессия показана только в дневные часы. Если для доминантных аллелей *Ppd-1a*, характеризующихся делециями или инсерциями, предложены вероятные механизмы нарушения паттерна экспрессии – удаление регуляторных областей или разъединение сайтов связывания репрессоров, то механизмы регуляции *Ppd-B1a* с увеличенным числом копий остаются неизученными. В данной работе был проведен биоинформатический анализ промоторов *PPD-1* генов для выявления вероятных причин нарушения экспрессии *Ppd-B1a* с увеличенным числом копий. По результатам данного анализа предложена гипотеза о том, что вероятной причиной усиления экспрессии *Ppd-B1a* является дисбаланс между увеличенным числом копий гена и количеством специфичного для *PPD-B1* репрессора, которое остается неизменным. При этом, наиболее вероятными кандидатами на роль репрессоров являются гены семейства *MADS*, сайты связывания которых были обнаружены в промоторной области *PPD-B1*, которые регулируют время цветения у других видов растений.

Для идентификации локуса на хромосоме 5В, индуцирующего переход к колошению, был проведен фенотипический анализ популяции RICL с последующим высокопроизводительным генотипированием SNP-маркерами линий данной популяции. С использованием полученных данных был проведен QTL анализ, который выявил локус в прицентромерной области хромосомы 5В, достоверно ассоциированный со временем колошения. Гены, ассоциированные с SNP маркерами, расположенными в данной области, являются вероятной причиной различия линий по времени колошения. Транскрипционные факторы *WRKY*, *ERF/AP2*, *FHY3/FAR1* и ген *ELF4*, гомология с которыми была показана для последовательностей, ассоциированных с SNP из данного локуса, являются известными регуляторами времени колошения у многих растений. Можно предположить, что возможной причиной различий по времени колошения является разное происхождение генов пути колошения и возможных участников этих взаимодействий, локализованных на хромосоме 5В. Интересно, что у почти изогенных линий (первая генетическая модель) также обнаружилось различие по локусу на хромосоме 5В в области вероятной локализации *FHY3/FAR1*.

В ходе изучения взаимодействий генов колошения путем сравнения суточных паттернов экспрессии и их корреляций, было сделано предположение, что нечувствительный к фотопериоду *Ppd-B1a* может оказывать положительное влияние на экспрессию гена рецептора красного света, *PHYC*. Имеющиеся данные также позволяют предположить возможное участие *FHY3/FAR1*, локализованного в прицентромерной области хромосомы 5В, во взаимодействии между *PHYC* и *Ppd-B1a*.

Таким образом, в данной работе подробно рассмотрены важные детерминанты времени колошения мягкой пшеницы. С использованием различных систем маркеров локализованы районы на хромосомах В-генома, связанные с индукцией колошения. Изучены последовательности, расположенные в выявленных локусах.

Выводы

1. Выявлен район на коротком плече хромосомы 2В между маркерами *Xgwm148* и *Xgwm388*, ассоциированный с различиями по времени колошения у почти изогенных линий *Ppd-m* и *Ppd-0^m*, *Ppd-w* и *Ppd-0^w*. Установлено, что доминантный аллель *Ppd-B1a*, локализованный в данном районе, детерминирует данный признак.
2. Структурно-функциональный анализ аллеля *Ppd-B1a* у линий *Ppd-m* и *Ppd-w* показал, что причиной раннего колошения является увеличение числа копий гена. Выявленный доминантный аллель *Ppd-B1* с увеличенным числом копий гена был обозначен как *Ppd-B1a^{cnv}*. Последовательности копий были одинаковыми, но выявленные однонуклеотидные замены и инсерция/делеция позволяли отличать *Ppd-B1a^{cnv}* от других аллелей *PPD-B1*. Впервые предложен механизм модуляции экспрессии аллеля *Ppd-B1a* с увеличенным числом копий гена с участием транскрипционных факторов MADS-box.
3. Построена генетическая карта хромосомы 5В пшеницы, включающая 379 SNP маркеров, с использованием популяции рекомбинантных инбредных хромосомных линий, полученных от скрещивания CS и CS-5Bdic. QTL-анализ позволил выявить новый локус в прицентромерной области хромосомы 5В, ассоциированный с различиями по времени колошения при развитии без яровизации. Для данного локуса выявлены новые вероятные гены-кандидаты, детерминирующие время колошения мягкой пшеницы: *WRKY*, *AP2/ERF*, *FHY3/FAR1* и *ELF4*.
4. Анализ паттернов суточной экспрессии генов, контролирующих цветение мягкой пшеницы и их корреляций впервые позволил установить, что доминантный аллель *Ppd-B1a^{cnv}* в ночное время положительно регулирует экспрессию *PHYC*, гена рецептора красного света, инициирующего переход к цветению.
5. Впервые показано, что транскрипционный фактор *FHY3/FAR1*, локализованный на хромосоме 5В, может быть вовлечен во взаимодействие генов *PPD-B1* и *PHYC* мягкой пшеницы.

Список литературы

1. Adamczyk B.J., Lehti-Shiu M.D., Fernandez D.E. The MADS domain factors AGL15 and AGL18 act redundantly as repressors of the floral transition in *Arabidopsis* // *Plant J.*– 2007.– Vol. 50, № 6.– P. 1007–1019.
2. Akhunov E.D., Akhunova A.R., Anderson O.D., Anderson J.A., Blake N., Clegg M.T., et al. Nucleotide diversity maps reveal variation in diversity among wheat genomes and chromosomes // *BMC Genomics.*– BioMed Central Ltd, 2010.– Vol. 11, № 1.– P. 702.
3. Alabadi D., Oyama T., Yanovsky M.J., Harmon F.G., Más P., Kay S. A. Reciprocal regulation between *TOC1* and *LHY/CCA1* within the *Arabidopsis* circadian clock // *Science.*– 2001.– Vol. 293, № 5531.– P. 880–883.
4. Alexandre C.M., Hennig L. *FLC* or not *FLC*: the other side of vernalization // *J. Exp. Bot.*– 2008.– Vol. 59, № 6.– P. 1127–1135.
5. Allard V., Veisz O., Kőszegi B., Rousset M., Le Gouis J., Martre P. The quantitative response of wheat vernalization to environmental variables indicates that vernalization is not a response to cold temperature // *J. Exp. Bot.*– 2012.– Vol. 63, № 2.– P. 847–857.
6. Allouis S., Moore G., Bellec A., Sharp R., Rampant F.P., Mortimer K., Pateyron S., Foote T.N., Griffiths S., Caboche M., Chalhoub B. Construction and characterisation of a hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) BAC library from the reference germplasm “Chinese Spring” // *Cereal Res. Commun.*– Cereal Research Institute, 2003.– Vol. 31, № 3–4.– P. 331–338.
7. Alqudah A.M., Sharma R., Pasam R.K., Graner A., Kilian B., Schnurbusch T. Genetic dissection of photoperiod response based on GWAS of pre-anthesis phase duration in spring barley // *PLoS One.*– 2014.– Vol. 9, № 11.– P. e113120.
8. Alvarez M.A., Tranquilli G., Lewis S., Kippes N., Dubcovsky J. Genetic and physical mapping of the earliness per se locus *Eps-Am1* in *Triticum monococcum* identifies *EARLY FLOWERING 3 (ELF3)* as a candidate gene // *Funct. Integr. Genomics.*– 2016.– Vol. 16, № 4.– P. 365–382.
9. An H., Roussot C., Suárez-López P., Corbesier L., Vincent C., Piñeiro M., Hepworth S., Mouradov A., Justin S., Turnbull C., Coupland G. *CONSTANS* acts

- in the phloem to regulate a systemic signal that induces photoperiodic flowering of *Arabidopsis* // *Development*.– 2004.– Vol. 131, № 15.– P. 3615–3626.
10. Angel A., Song J., Dean C., Howard M. A Polycomb-based switch underlying quantitative epigenetic memory // *Nature*.– Nature Publishing Group, 2011.– Vol. 476, № 7358.– P. 105–108.
 11. Aukerman M.J., Sakai H. Regulation of flowering time and floral organ identity by a MicroRNA and its *APETALA2 -Like* target genes // *Plant Cell*.– 2003.– Vol. 15.– P. 2730–2741.
 12. Badaeva E.D., Dedkova O.S., Gay G., Pukhalskyi V.A., Zelenin A.V., Bernard S., Bernard M. Chromosomal rearrangements in wheat: their types and distribution // *Genome*.– 2007.– Vol. 50, № 10.– P. 907–926.
 13. Barrett B., M.Bayram, Kidwell K. Identifying AFLP and microsatellite markers for vernalization response gene *Vrn-B1* in hexaploid wheat using reciprocal mapping populations // *Plant Breed*.– 2002.– Vol. 121.– P. 400–406.
 14. Beales J., Turner A., Griffiths S., Snape J.W., Laurie D.A. A pseudo-response regulator is misexpressed in the photoperiod insensitive *Ppd-D1a* mutant of wheat (*Triticum aestivum* L.) // *Theor. Appl. Genet*.– 2007.– Vol. 115, № 5.– P. 721–733.
 15. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT // *Nucleic Acids Symp. Ser*.– 1999.– Vol. 41.– P. 95–98.
 16. Blázquez M. a, Soowal L.N., Lee I., Weigel D. *LEAFY* expression and flower initiation in *Arabidopsis* // *Development*.– 1997.– Vol. 124, № 19.– P. 3835–3844.
 17. Block A., Dangel J.L., Hahlbrock K., Schulze-Lefert P. Functional borders, genetic fine structure, and distance requirements of cis elements mediating light responsiveness of the parsley chalcone synthase promoter // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A*.– 1990.– Vol. 87, № 14.– P. 5387–5391.
 18. Blümel M., Dally N., Jung C. Flowering time regulation in crops—what did we learn from *Arabidopsis*? // *Curr. Opin. Biotechnol*.– 2015.– Vol. 32.– P. 121–129.
 19. Bogard M., Ravel C., Paux E., Bordes J., Balfourier F., Chapman S., Le Gouis J., Allard V. Predictions of heading date in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) using QTL-based parameters of an ecophysiological model // *J. Exp. Bot*.– 2014.
 20. Borello U., Ceccarelli E., Giuliano G. Constitutive, light-responsive and circadian clock-responsive factors compete for the different 1 box elements in plant light-

- regulated promoters // *Plant J.*– 1993.– Vol. 4, № 4.– P. 611–619.
21. Bouché F., Lobet G., Tocquin P., Périlleux C. FLOR-ID: an interactive database of flowering-time gene networks in *Arabidopsis thaliana* // *Nucleic Acids Res.*– 2016.– Vol. 44, № D1.– P. D1167-71.
 22. Bratzel F., López-Torrejón G., Koch M., Del Pozo J.C., Calonje M. Keeping cell identity in arabidopsis requires PRC1 RING-finger homologs that catalyze H2A monoubiquitination // *Curr. Biol.*– 2010.– Vol. 20, № 20.– P. 1853–1859.
 23. Bruce W.B., Deng X.W., Quail P.H. A negatively acting DNA sequence element mediates phytochrome-directed repression of phyA gene transcription // *EMBO J.*– 1991.– Vol. 10, № 10.– P. 3015–3024.
 24. Calixto C.P.G. Alternative splicing in the regulation of the barley circadian clock: Philosophy Doctor Thesis, University of Dundee, Scotland, 2013, 296 p.
 25. Calixto C.P.G., Waugh R., Brown J.W.S. Evolutionary relationships among barley and arabidopsis core circadian clock and clock-associated genes // *J. Mol. Evol.*– 2015.– Vol. 80, № 2.– P. 108–119.
 26. Campoli C., Drosse B., Searle I., Coupland G., Von Korff M. Functional characterisation of *HvCO1*, the barley (*Hordeum vulgare*) flowering time ortholog of *CONSTANS* // *Plant J.*– 2012.– Vol. 69, № 5.– P. 868–880.
 27. Campoli C., Shtaya M., Davis S.J., von Korff M. Expression conservation within the circadian clock of a monocot: natural variation at barley *Ppd-H1* affects circadian expression of flowering time genes, but not clock orthologs // *BMC Plant Biol.*– BMC Plant Biology, 2012.– Vol. 12, № 1.– P. 97.
 28. Cane K., Eagles H.A., Laurie D.A., Trevaskis B., Vallance N., Eastwood R.F., Gororo N.N., Kuchel H., Martin P.J. *Ppd-B1* and *Ppd-D1* and their effects in southern Australian wheat // *Crop Pasture Sci.*– 2013.– Vol. 64.– P. 100–114.
 29. Cao L., Hayashi K., Tokui M., Mori M., Miura H., Onishi K. Detection of QTLs for traits associated with pre-harvest sprouting resistance in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) // *Breed. Sci.*– 2016.– Vol. 66, № 2.– P. 260–270.
 30. Carollo V., Matthews D.E., Lazo G.R., Blake T.K., Hummel D.D., Lui N., Hane D.L., Anderson O.D. GrainGenes 2.0. An improved resource for the small-grains community // *Bioinformatics.*– 2005.– Vol. 139, № 2.– P. 643–651.– URL: <http://wheat.pw.usda.gov/GG3/>.

31. Castillejo C., Pelaz S. The Balance between *CONSTANS* and *TEMPRANILLO* activities determines *FT* expression to trigger flowering // *Curr. Biol.*– 2008.– Vol. 18, № 17.– P. 1338–1343.
32. Chan C.S., Guo L., Shih M.C. Promoter analysis of the nuclear gene encoding the chloroplast glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase B subunit of *Arabidopsis thaliana* // *Plant Mol. Biol.*– 2001.– Vol. 46, № 2.– P. 131–141.
33. Chen A., Dubcovsky J. Wheat TILLING mutants show that the vernalization gene VRN1 down-regulates the flowering repressor VRN2 in leaves but is not essential for flowering // *PLoS Genet.*– 2012.– Vol. 8, № 12.– P. e1003134.
34. Chen A., Li C., Hu W., Lau M.Y., Lin H., Rockwell N.C., Martin S.S., Jernstedt J. a, Lagarias J.C., Dubcovsky J. Phytochrome C plays a major role in the acceleration of wheat flowering under long-day photoperiod // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*– 2014.– Vol. 111, № 28.– P. 10037–10044.
35. Chen F., Gao M., Zhang J., Zuo A., Shang X., Cui D. Molecular characterization of vernalization and response genes in bread wheat from the Yellow and Huai Valley of China // *BMC Plant Biol.*– 2013.– Vol. 13.– P. 199.
36. Chen X. A microRNA as a translational repressor of *APETALA2* in *Arabidopsis* flower development // *Science.*– 2004.– Vol. 303, № 5666.– P. 2022–2025.
37. Chow C.-N., Zheng H.-Q., Wu N.-Y., Chien C.-H., Huang H.-D., Lee T.-Y., Chiang-Hsieh Y.-F., Hou P.-F., Yang T.-Y., Chang W.-C. PlantPAN 2.0: an update of plant promoter analysis navigator for reconstructing transcriptional regulatory networks in plants // *Nucl. acids research.*– 2016.– Vol. 44.– P. D1154–D1160.– URL: <http://plantpan2.itps.ncku.edu.tw>.
38. Cockram J., Jones H., Leigh F.J., O'Sullivan D., Powell W., Laurie D. a, Greenland A.J. Control of flowering time in temperate cereals: genes, domestication, and sustainable productivity // *J. Exp. Bot.*– 2007.– Vol. 58, № 6.– P. 1231–1244.
39. D'Aloia M., Bonhomme D., Bouché F., Tamseddak K., Ormenese S., Torti S., Coupland G., Périlleux C. Cytokinin promotes flowering of *Arabidopsis* via transcriptional activation of the *FT* paralogue *TSF* // *Plant J.*– 2011.– Vol. 65, № 6.– P. 972–979.
40. Davletova S., Davletova S., Schlauch K., Schlauch K., Coutu J., Coutu J., Mittler R., Mittler R. The Zinc-Finger protein Zat12 Plays a central role in reactive oxygen

- and abiotic stress signaling in *Arabidopsis* // *Plant Physiol.*– 2005.– Vol. 139, № October.– P. 847–856.
41. Degenhardt J., Tobin E.M. A DNA binding activity for one of two closely defined phytochrome regulatory elements in an Lhcb promoter is more abundant in etiolated than in green plants // *Plant Cell Online.*– 1996.– Vol. 8, № 1.– P. 31–41.
 42. Devos K.M., Beales J., Ogihara Y., Doust A.N. Comparative sequence analysis of the phytochrome C gene and its upstream region in allohexaploid wheat reveals new data on the evolution of its three constituent genomes // *Plant Mol. Biol.*– 2005.– Vol. 58, № 5.– P. 625–641.
 43. Diallo A.O., Ali-Benali M.A., Badawi M., Houde M., Sarhan F. Expression of vernalization responsive genes in wheat is associated with histone H3 trimethylation // *Mol. Genet. Genomics.*– 2012.– Vol. 287, № 7.– P. 575–590.
 44. Díaz A., Zikhali M., Turner A., Isaac P., Laurie D. Copy number variation affecting the *Photoperiod-B1* and *Vernalization-A1* genes is associated with altered flowering time in wheat (*Triticum aestivum*) // *PLoS One.*– 2012.– Vol. 7, № 3.– P. e33234.
 45. Ding Z., Millar A.J., Davis A.M., Davis S.J. *TIME FOR COFFEE* encodes a nuclear regulator in the *Arabidopsis thaliana* circadian clock // *Plant Cell.*– 2007.– Vol. 19, № 5.– P. 1522–1536.
 46. Distelfeld a, Li C., Dubcovsky J. Regulation of flowering in temperate cereals // *Curr. Opin. Plant Biol.*– Elsevier Ltd, 2009.– Vol. 12, № 2.– P. 178–184.
 47. Dixon L.E., Knox K., Kozma-Bognar L., Southern M.M., Pokhilko A., Millar A.J. Temporal repression of core circadian genes is mediated through *EARLY FLOWERING 3* in *Arabidopsis* // *Curr. Biol.*– Elsevier Ltd, 2011.– Vol. 21, № 2.– P. 120–125.
 48. Drews G.N., Bowman J.L., Meyerowitz E.M. Negative regulation of the *Arabidopsis* homeotic gene *AGAMOUS* by the *APETALA2* product // *Cell.*– 1991.– Vol. 65, № 6.– P. 991–1002.
 49. Dubcovsky J., Lijavetzky D., Appendino L., Tranquilli G. Comparative RFLP mapping of *Triticum monococcum* genes controlling vernalization requirement // *Theor. Appl. Genet.*– 1998.– Vol. 97.– P. 968–975.
 50. Dubcovsky J., Loukoianov A., Fu D., Valarik M., Sanchez A., Yan L. Effect of photoperiod on the regulation of wheat vernalization genes *VRN1* and *VRN2* // *Plant*

- Mol. Biol.– 2006.– Vol. 60, № 4.– P. 469–480.
51. Elliott R.C., Betzner a S., Huttner E., Oakes M.P., Tucker W.Q., Gerentes D., Perez P., Smyth D.R. *AINTEGUMENTA*, an *APETALA2*-like gene of *Arabidopsis* with pleiotropic roles in ovule development and floral organ growth // *Plant Cell*.– 1996.– Vol. 8, № 2.– P. 155–168.
 52. Endo M., Tanigawa Y., Murakami T., Araki T., Nagatani A. PHYTOCHROME-DEPENDENT LATE-FLOWERING accelerates flowering through physical interactions with phytochrome B and CONSTANS // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*– 2013.– Vol. 110, № 44.– P. 18017–18022.
 53. Ensemble Plants (Release 34) [Electronic resource].– URL: <http://plants.ensembl.org/index.html>.
 54. Eriksson S., Böhlenius H., Moritz T., Nilsson O. GA4 is the active gibberellin in the regulation of *LEAFY* transcription and *Arabidopsis* floral initiation // *Plant Cell*.– 2006.– Vol. 18, № 9.– P. 2172–2181.
 55. Evans L.T. Short day induction of inflorescence initiation in some winter wheat varieties // *Funct. Plant Biol.*– 1987.– Vol. 14, № 3.– P. 277–286.
 56. Fankhauser C., Staiger D. Photoreceptors in *Arabidopsis thaliana*: Light perception, signal transduction and entrainment of the endogenous clock // *Planta*.– 2002.– Vol. 216, № 1.– P. 1–16.
 57. Farinas B., Mas P. Functional implication of the MYB transcription factor RVE8/LCL5 in the circadian control of histone acetylation // *Plant J.*– 2011.– Vol. 66, № 2.– P. 318–329.
 58. Faure S., Turner A.S., Gruszka D., Christodoulou V., Davis S.J., von Korff M., Laurie D. A. Mutation at the circadian clock gene *EARLY MATURITY 8* adapts domesticated barley (*Hordeum vulgare*) to short growing seasons // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*– 2012.– Vol. 109, № 21.– P. 4–9.
 59. Ferrándiz C., Gu Q., Martienssen R., Yanofsky M.F. Redundant regulation of meristem identity and plant architecture by *FRUITFULL*, *APETALA1* and *CAULIFLOWER* // *Development*.– 2000.– Vol. 127, № 4.– P. 725–734.
 60. Fornara F., Panigrahi K.C.S., Gissot L., Sauerbrunn N., Rühl M., Jarillo J.A., Coupland G. *Arabidopsis* DOF transcription factors act redundantly to reduce *CONSTANS* expression and are essential for a photoperiodic flowering response //

- Dev. Cell.– 2009.– Vol. 17, № 1.– P. 75–86.
61. Fowler S., Lee K., Onouchi H., Samach A., Richardson K., Morris B., Coupland G., Putterill J. *GIGANTEA*: a circadian clock-controlled gene that regulates photoperiodic flowering in Arabidopsis and encodes a protein with several possible membrane-spanning domains // EMBO J.– 1999.– Vol. 18, № 17.– P. 4679–4688.
 62. Franco-Zorrilla J.M., López-Vidriero I., Carrasco J.L., Godoy M., Vera P., Solano R. DNA-binding specificities of plant transcription factors and their potential to define target genes // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.– 2014.– Vol. 111, № 6.– P. 2367–2372.
 63. Fu D., Szucs P., Yan L., Helguera M., Skinner J.S., von Zitzewitz J., Hayes P.M., Dubcovsky J. Large deletions within the first intron in *VRN-1* are associated with spring growth habit in barley and wheat // Mol. Genet. Genomics.– 2005.– Vol. 273, № 1.– P. 54–65.
 64. Galiba G., Quarrie S. A., Sutka J., Morgounov A., Snape J.W. RFLP mapping of the vernalization (*Vrn1*) and frost resistance (*Fr1*) genes on chromosome 5A of wheat // Theor. Appl. Genet.– 1995.– Vol. 90.– P. 1174–1179.
 65. Galvão V.C., Horrer D., Küttner F., Schmid M. Spatial control of flowering by DELLA proteins in *Arabidopsis thaliana* // Development.– 2012.– Vol. 139, № 21.– P. 4072–4082.
 66. Ganai M.W., Röder M.S. Chapter 1 Microsatellite and SNP markers in wheat breeding // Genomics Assisted Crop Improvement: Vol. 2: Genomics Applications in Crops.– Springer Netherlands, 2007.– Vol. 2.– P. 1–24.
 67. Gawronski P., Ariyadasa R., Himmelbach A., Poursarebani N., Kilian B., Stein N., et al. A distorted circadian clock causes early flowering and temperature-dependent variation in spike development in the *Eps-3Am* mutant of einkorn wheat // Genetics.– 2014.– Vol. 196, № 4.– P. 1253–1261.
 68. Gendron J.M., Pruneda-Paz J.L., Doherty C.J., Gross A.M., Kang S.E., Kay S. A. Arabidopsis circadian clock protein, TOC1, is a DNA-binding transcription factor // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.– 2012.– Vol. 109, № 8.– P. 3167–3172.
 69. Genoud T., Schweizer F., Tscheuschler A., Debrieux D., Casal J.J., Schäfer E., Hiltbrunner A., Fankhauser C. FHY1 mediates nuclear import of the light-activated phytochrome A photoreceptor // PLoS Genet.– 2008.– Vol. 4, № 8.– P. e1000143.

70. Gerard G.S., Börner A., Lohwasser U., Simón M.R. Genome-wide association mapping of genetic factors controlling *Septoria tritici* blotch resistance and their associations with plant height and heading date in wheat // *Euphytica*.– 2017.– Vol. 213, № 1.– P. 27.
71. Gilmartin P.M., Sarokin L., Memelink J., Chua N.H. Molecular light switches for plant genes // *Plant Cell*.– 1990.– Vol. 2, № 5.– P. 369–378.
72. 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.– Vol. 10.– P. 168.
73. Goncharov N.P., Watanabe N. Physical mapping and chromosomal location of the photoperiod response gene *Ppd2* in common wheat // *Breed. Sci*.– 2005.– Vol. 55.– P. 81–86.
74. Green P.J., Yong M.H., Cuzzo M., Kano-Murakami Y., Silverstein P., Chua N.H. Binding site requirements for pea nuclear protein factor GT-1 correlate with sequences required for light-dependent transcriptional activation of the *rbcS-3A* gene // *EMBO J*.– 1988.– Vol. 7, № 13.– P. 4035–4044.
75. Greenup A., Peacock W.J., Dennis E.S., Trevaskis B. The molecular biology of seasonal flowering-responses in *Arabidopsis* and the cereals // *Ann. Bot*.– 2009.– Vol. 103, № 8.– P. 1165–1172.
76. Griffiths S., Simmonds J., Leverington M., Wang Y., Fish L., Sayers L., Alibert L., Orford S., Wingen L., Herry L., Faure S., Laurie D., Bilham L., Snape J. Meta-QTL analysis of the genetic control of ear emergence in elite European winter wheat germplasm // *Theor. Appl. Genet*.– 2009.– Vol. 119, № 3.– P. 383–395.
77. Gu X., Jiang D., Wang Y., Bachmair A., He Y. Repression of the floral transition via histone H2B monoubiquitination // *Plant J*.– 2009.– Vol. 57, № 3.– P. 522–533.
78. Gu X., Le C., Wang Y., Li Z., Jiang D., Wang Y., He Y. *Arabidopsis* FLC clade members form flowering-repressor complexes coordinating responses to endogenous and environmental cues // *Nat. Commun*.– Nature Publishing Group, 2013.– Vol. 4.– P. 1947.
79. Guo Y., Du Z., Chen J., Zhang Z. QTL mapping of wheat plant architectural characteristics and their genetic relationship with seven QTLs conferring resistance to sheath blight // *PLoS One*.– 2017.– Vol. 12, № 4.– P. e0174939.

80. Gustafson J.P., Ross K. Control of alien gene expression for aluminum tolerance in wheat // *Genome*.– 1990.– Vol. 33, № 1.– P. 9–12.
81. Halliday K.J., Salter M.G., Thingnaes E., Whitelam G.C. Phytochrome control of flowering is temperature sensitive and correlates with expression of the floral integrator *FT* // *Plant J.*– 2003.– Vol. 33, № 5.– P. 875–885.
82. Hanahan D., Jessee J., Bloom F.R. Plasmid transformation of *Escherichia coli* and other bacteria // *Methods Enzymol.*– 1991.– Vol. 204, № 1970.– P. 63–113.
83. Hanocq E., Niarquin M., Heumez E., Rousset M., Le Gouis J. Detection and mapping of QTL for earliness components in a bread wheat recombinant inbred lines population // *Theor. Appl. Genet.*– 2004.– Vol. 110, № 1.– P. 106–115.
84. Hanumappa M., Pratt L., Cordonnier-Pratt M., Deitzer G. A photoperiod-insensitive barley line contains a light-labile phytochrome B // *Plant Physiol.*– 1999.– Vol. 119, № 3.– P. 1033–1040.
85. He Y. Chromatin regulation of flowering // *Trends Plant Sci.*– Elsevier Ltd, 2012.– Vol. 17, № 9.– P. 556–562.
86. Hemming M.N., Peacock W.J., Dennis E.S., Trevaskis B. Integration of seasonal flowering time responses in temperate cereals // *Plant Signal. Behav.*– 2008.– Vol. 3, № 8.– P. 601–602.
87. Herrero E., Kolmos E., Bujdoso N., Yuan Y., Wang M., Berns M.C., Uhlworm H., Coupland G., Saini R., Jaskolski M., Webb A., Gonçalves J., Davis S.J. EARLY FLOWERING4 recruitment of EARLY FLOWERING3 in the nucleus sustains the *Arabidopsis* circadian clock // *Plant Cell.*– 2012.– Vol. 24, № 2.– P. 428–443.
88. Higgins J. A, Bailey P.C., Laurie D. A. Comparative genomics of flowering time pathways using *Brachypodium distachyon* as a model for the temperate grasses // *PLoS One*.– 2010.– Vol. 5, № 4.– P. e10065.
89. Hu X., Kong X., Wang C., Ma L., Zhao J., Wei J., Zhang X., Loake G.J., Zhang T., Huang J., Yang Y. Proteasome-mediated degradation of FRIGIDA modulates flowering time in *Arabidopsis* during vernalization // *Plant Cell.*– 2014.– Vol. 26, № December.– P. 1–20.
90. Hu Y.X., Wang Y.H., Liu X.F., Li J.Y. *Arabidopsis* *RAV1* is down-regulated by brassinosteroid and may act as a negative regulator during plant development // *Cell Res.*– 2004.– Vol. 14, № 1.– P. 8–15.

91. Huang H., Alvarez S., Bindbeutel R., Shen Z., Naldrett M.J., Evans B.S., Briggs S.P., Hicks L.M., Kay S.A., Nusinow D.A. Identification of evening complex associated proteins in arabidopsis by affinity purification and mass spectrometry // *Mol. Cell. Proteomics*.– 2016.– Vol. 15, № 1.– P. 201–217.
92. Huang W., Perez-Garcia P., Pokhilko A., Millar A.J., Antoshechkin I., Riechmann J.L., Mas P. Mapping the core of the arabidopsis circadian clock defines the network structure of the oscillator // *Science*.– 2012.– Vol. 336, № 6077.– P. 75–79.
93. Hudson M.E., Lisch D.R., Quail P.H. The *FHY3* and *FAR1* genes encode transposase-related proteins involved in regulation of gene expression by the phytochrome A-signaling pathway // *Plant J.*– 2003.– Vol. 34, № 4.– P. 453–471.
94. Hudson M.E., Quail P.H. Identification of promoter motifs involved in the network of Phytochrome A-Regulated gene expression by combined analysis of genomic sequence and microarray data // *Plant Physiol.*– 2003.– Vol. 133, № 4.– P. 1605–1616.
95. Iida A., Kazuoka T., Torikai S., Kikuchi H., Oeda K. A zinc finger protein RHL41 mediates the light acclimatization response in Arabidopsis // *Plant J.*– 2000.– Vol. 24, № 2.– P. 191–203.
96. Imaizumi T., Schultz T.F., Harmon F.G., Ho L.A., Kay S.A. FKF1 F-box protein mediates cyclic degradation of a repressor of *CONSTANS* in Arabidopsis // *Science*.– 2005.– Vol. 309, № 5732.– P. 293–297.
97. 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.*– 2001.– Vol. 14, № 1.– P. 1–8.
98. Irish V.F., Sussex I.M. Function of the *apetala-1* gene during Arabidopsis floral development // *Plant Cell*.– 1990.– Vol. 2, № 8.– P. 741–753.
99. Ito S., Song Y.H., Josephson-Day A. R., Miller R.J., Breton G., Olmstead R.G., Imaizumi T. FLOWERING BHLH transcriptional activators control expression of the photoperiodic flowering regulator *CONSTANS* in Arabidopsis // *Proc. Natl. Acad. Sci.*– 2012.– Vol. 109, № 9.– P. 3582–3587.
100. James A.B., Monreal J.A., Nimmo G.A., Kelly C.L., Herzyk P., Jenkins G.I., Nimmo H.G. The Circadian clock in Arabidopsis roots is a simplified slave version of the clock in shoots // *Science*.– 2008.– Vol. 322, № 5909.– P. 1832–1835.

101. Jarillo J. a, Piñeiro M. Timing is everything in plant development. The central role of floral repressors // *Plant Sci.*– 2011.– Vol. 181, № 4.– P. 364–378.
102. Jiang D., Wang Y., Wang Y., He Y. Repression of *FLOWERING LOCUS C* and *FLOWERING LOCUS T* by the Arabidopsis Polycomb repressive complex 2 components // *PLoS One.*– 2008.– Vol. 3, № 10.– P. e3404.
103. Johansson M., Staiger D. Time to flower: interplay between photoperiod and the circadian clock // *J. Exp. Bot.*– 2015.– Vol. 66, № 3.– P. 719–730.
104. Johnson C.S., Kolevski B., Smyth D.R. TRANSPARENT TESTA GLABRA2, a trichome and seed coat development gene of Arabidopsis, encodes a WRKY transcription factor // *Plant Cell.*– 2002.– Vol. 14, № 6.– P. 1359–1375.
105. Johnson E., Bradley M., Harberd N.P., Whitelam C.C. Photoresponses of Light-Crown phyA Mutants of Arabidopsis // *Plant Physiol.*– 1994.– Vol. 105.– P. 141–149.
106. Jung J.H., Seo P.J., Ahn J.H., Park C.M. Arabidopsis RNA-binding Protein FCA regulates microRNA172 processing in thermosensory flowering // *J. Biol. Chem.*– 2012.– Vol. 287, № 19.– P. 16007–16016.
107. Kang H.G., Jang S., Chung J.E., Cho Y.G., An G. Characterization of two rice MADS box genes that control flowering time // *Mol Cells.*– 1997.– Vol. 7, № 4.– P. 559–566.
108. Kato K., Wada T. Genetic analysis and selection experiment for narrow-sense earliness in wheat by using segregating hybrid progenies // *Breed. Sci.*– 1999.– Vol. 49.– P. 233–238.
109. Kendrick R.E., Kronenberg G.H.M. Photomorphogenesis in Plants, Springer Netherlands, 1994.– 828 p.
110. Khlestkina E.K., Tereshchenko O.Y., Salina E. a. Anthocyanin biosynthesis genes location and expression in wheat-rye hybrids // *Mol. Genet. Genomics.*– 2009.– Vol. 282, № 5.– P. 475–485.
111. Kim D.-H., Sung S. Genetic and Epigenetic Mechanisms Underlying Vernalization // *Arabidopsis Book.*– 2014.– Vol. 12.– P. e0171.
112. Kim D.-H., Sung S. The Plant Homeo Domain finger protein, VIN3-LIKE 2, is necessary for photoperiod-mediated epigenetic regulation of the floral repressor, MAF5 // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*– 2010.– Vol. 107, № 39.– P. 17029–17034.

113. Kim J., Yi H., Choi G., Shin B., Song P., Choi G. Functional characterization of PIF3 in phytochrome-mediated light signal transduction // *Plant Cell.*– 2003.– Vol. 15.– P. 2399–2407.
114. Kim S., Soltis P.S., Wall K., Soltis D.E. Phylogeny and domain evolution in the *APETALA2-like* gene family // *Mol. Biol. Evol.*– 2006.– Vol. 23, № 1.– P. 107–120.
115. Kippes N., Chen A., Zhang X., Lukaszewski A.J., Dubcovsky J. Development and characterization of a spring hexaploid wheat line with no functional *VRN2* genes // *Theor. Appl. Genet.*– Springer Berlin Heidelberg, 2016.– Vol. 129, № 7.– P. 1417–1428.
116. Kippes N., Debernardi J.M., Vasquez-Gross H.A., Akpinar B.A., Budak H., Kato K., Chao S., Akhunov E., Dubcovsky J. Identification of the *VERNALIZATION 4* gene reveals the origin of spring growth habit in ancient wheats from South Asia // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*– 2015.– Vol. 112, № 39.– P. E5401-10.
117. Kiseleva A.A., Shcherban A.B., Leonova I.N., Frenkel Z., Salina E.A. Identification of new heading date determinants in wheat 5B chromosome // *BMC Plant Biol.*– *BMC Plant Biology*, 2016.– Vol. 16(s1), № 8.– P. 35–46.
118. Kiss T., Balla K., Bányai J., Veisz O., Karsai I. Effect of different sowing times on the plant developmental parameters of wheat (*Triticum aestivum* L.) // *Cereal Res. Commun.*– 2014.– Vol. 42, № 2.– P. 239–251.
119. Kiss T., Balla K., Veisz O., Láng L., Bedő Z., Griffiths S., Isaac P., Karsai I. Allele frequencies in the *VRN-A1*, *VRN-B1* and *VRN-D1* vernalization response and *PPD-B1* and *PPD-D1* photoperiod sensitivity genes, and their effects on heading in a diverse set of wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.) // *Mol. Breed.*– 2014.– Vol. 34, № 2.– P. 297–310.
120. Kitagawa S., Shimada S., Murai K. Effect of *Ppd-1* on the expression of flowering-time genes in vegetative and reproductive growth stages of wheat // *Genes Genet. Syst.*– 2012.– Vol. 87, № 3.– P. 161–168.
121. Klucher K.M., Chow H., Reiser L., Fischer R.L. The *AINTEGUMENTA* gene of *Arabidopsis* required for ovule and female gametophyte development is related to the floral homeotic gene *APETALA2* // *Plant Cell.*– 1996.– Vol. 8, № 2.– P. 137–153.
122. Koo S.C., Bracko O., Park M.S., Schwab R., Chun H.J., Park K.M., et al. Control

- of lateral organ development and flowering time by the *Arabidopsis thaliana* MADS-box Gene *AGAMOUS-LIKE6* // Plant J.– 2010.– Vol. 62, № 5.– P. 807–816.
123. Korol A., Mester D., Frenkel Z., Ronin Y. Methods for genetic analysis in the Triticeae // Genetics and Genomics of the Triticeae,– Springer US, 2009.– P. 163–199.
 124. Koshkin V.A., Lisker I.S., Merezko A.F., Kosareva I.A., Dragavtsev V.A. Influence of genes *Ppd* on phytochrome, photoperiodic sensitivity, growth and development of isogenic lines in wheat // Dokl. Russ. Acad. Agric. Sci.– 2004.– Vol. 1.– P. 3–4.
 125. Kumar S., Sharma V., Chaudhary S., Tyagi A., Mishra P., Priyadarshini A., Singh A. Genetics of flowering time in bread wheat *Triticum aestivum*: complementary interaction between vernalization-insensitive and photoperiod-insensitive mutations imparts very early flowering habit to spring wheat // J. Genet.– 2012.– Vol. 91, № 1.– P. 33–47.
 126. Kuno N., Møller S.G., Shinomura T., Xu X., Chua N.-H., Furuya M. The novel MYB protein EARLY-PHYTOCHROME-RESPONSIVE1 is a component of a slave circadian oscillator in *Arabidopsis* // Plant Cell.– 2003.– Vol. 15, № 10.– P. 2476–2488.
 127. Kunst L., Klenz J.E., Martinez-Zapater J., Haughn G.W. *AP2* Gene determines the identity of perianth organs in flowers of *Arabidopsis thaliana* // Plant Cell.– 1989.– Vol. 1, № 12.– P. 1195–1208.
 128. Law C.N., Worland A.J., Giorgi B. The genetic control of ear-emergence time by chromosomes 5A and 5D of wheat // Heredity (Edinb).– 1976.– Vol. 36, № 1.– P. 49–58.
 129. Le Gouis J., Bordes J., Ravel C., Heumez E., Faure S., Praud S., Galic N., Remoué C., Balfourier F., Allard V., Rousset M. Genome-wide association analysis to identify chromosomal regions determining components of earliness in wheat // Theor. Appl. Genet.– 2012.– Vol. 124, № 3.– P. 597–611.
 130. Lee J.H., Yoo S.J., Park S.H., Hwang I., Lee J.S., Ahn J.H. Role of SVP in the control of flowering time by ambient temperature in *Arabidopsis* // Genes Dev.– 2007.– Vol. 21, № 4.– P. 397–402.

131. Lee S., Kim J., Han J.-J., Han M., An G. Functional analyses of the flowering time gene *OsMADS50*, the putative *SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CO 1 / AGAMOUS-LIKE 20 (SOC1/AGL20)* ortholog in rice // *Plant J.*– 2004.– Vol. 38, № 5.– P. 754–764.
132. Leonova I., Pestsova E., Salina E., Efremova T., Ro M. Mapping of the *Vrn-B1* gene in *Triticum aestivum* using microsatellite markers // *Plant Breed.*– 2003.– Vol. 122.– P. 209–213.
133. Li C., Distelfeld A., Comis A., Dubcovsky J. Wheat flowering repressor VRN2 and promoter CO2 compete for interactions with NUCLEAR FACTOR-Y complexes // *Plant J.*– 2011.– Vol. 67, № 5.– P. 763–773.
134. Li C., Dubcovsky J. Wheat FT protein regulates *VRN1* transcription through interactions with FDL2 // *Plant J.*– 2008.– Vol. 55, № 4.– P. 543–554.
135. Li C., Lin H., Dubcovsky J. Factorial combinations of protein interactions generate a multiplicity of florigen activation complexes in wheat and barley // *Plant J.*– 2015.– Vol. 84, № 1.– P. 70–82.
136. Li G., Siddiqui H., Teng Y., Lin R., Wan X., Li J., Lau O.-S., Ouyang X., Dai M., Wan J., Devlin P.F., Deng X.W., Wang H. Coordinated transcriptional regulation underlying the circadian clock in *Arabidopsis* // *Nat. Cell Biol.*– Nature Publishing Group, 2011.– Vol. 13, № 5.– P. 616–622.
137. Li J., Li G., Wang H., Wang Deng X. Phytochrome Signaling Mechanisms // *The American Society of Plant Biologists*, 2011.– Vol. 9.– P. e0148.
138. Limin A.E., Fowler D.B. Low-temperature tolerance and genetic potential in wheat (*Triticum aestivum* L.): response to photoperiod, vernalization, and plant development // *Planta.*– 2006.– Vol. 224, № 2.– P. 360–366.
139. Loukoianov A., Yan L., Blechl A., Sanchez A., Dubcovsky J. Regulation of *VRN-1* vernalization genes in normal and transgenic polyploid wheat // *Plant Physiol.*– 2005.– Vol. 138, № 4.– P. 2364–2373.
140. Lu S.X., Webb C.J., Knowles S.M., Kim S.H.J., Wang Z., Tobin E.M. CCA1 and ELF3 interact in the control of hypocotyl length and flowering time in *Arabidopsis* // *Plant Physiol.*– 2012.– Vol. 158, № 2.– P. 1079–1088.
141. Luo X., Sun X., Liu B., Zhu D., Bai X., Cai H., Ji W., Cao L., Wu J., Wang M., Ding X., Zhu Y. Ectopic expression of a WRKY homolog from Glycine soja alters

- flowering time in *Arabidopsis* // PLoS One.– 2013.– Vol. 8, № 8.– P. e73295.
142. Luo X., Xi Bai, Sun X., Zhu D., Liu B., Ji W., Cai H., Cao L., Wu J., Hu M., Liu X., Tang L., Zhu Y. Expression of wild soybean *WRKY20* in *Arabidopsis* enhances drought toleranc // J. Exp. Bot.– 2013.– Vol. 64, № 8.– P. 2155–2169.
 143. Luo X.M., Lin W.H., Zhu S., Zhu J.Y., Sun Y., Fan X.Y., Cheng M., Hao Y., Oh E., Tian M., Liu L., Zhang M., Xie Q., Chong K., Wang Z.Y. Integration of Light- and Brassinosteroid-Signaling Pathways by a GATA Transcription Factor in *Arabidopsis* // Dev. Cell.– Elsevier Inc., 2010.– Vol. 19, № 6.– P. 872–883.
 144. Lv B., Nitcher R., Han X., Wang S., Ni F., Li K., Pearce S., Wu J., Dubcovsky J., Fu D. Characterization of *FLOWERING LOCUS T1 (FT1)* gene in Brachypodium and Wheat // PLoS One.– 2014.– Vol. 9, № 4.– P. e94171.
 145. Maccaferri M., Ricci A., Salvi S., Milner S.G., Noli E., Martelli P.L., et al. A high-density, SNP-based consensus map of tetraploid wheat as a bridge to integrate durum and bread wheat genomics and breeding // Plant Biotechnol. J.– 2015.– Vol. 13, № 5.– P. 648–663.
 146. Mandel M.A., Bowman J.L., Kempin S. a, Yanofsky M.F. Manipulation of flower structure in transgenic tobacco // Cell.– 1992.– Vol. 71.– P. 133–143.
 147. Manfield I.W., Devlin P.F., Jen C., Westhead D.R., Gilmartin P.M. Conservation, convergence, and divergence of light-responsive, circadian-regulated, and tissue-specific expression patterns during evolution of the *Arabidopsis* GATA gene family // Plant Physiol.– 2007.– Vol. 143, № 2.– P. 941–958.
 148. Martinez-Hernandez A., Lopez-Ochoa L., Arguello-Astorga G., Herrera-Estrella L. Functional properties and regulatory complexity of a minimal RBCS light-responsive unit activated by Phytochrome, Cryptochrome, and Plastid signals // Plant Physiol.– 2002.– Vol. 128, № 4.– P. 1223–1233.
 149. Marza F., Bai G.-H., Carver B.F., Zhou W.-C. Quantitative trait loci for yield and related traits in the wheat population Ning7840 x Clark // Theor. Appl. Genet.– 2006.– Vol. 112, № 4.– P. 688–698.
 150. Mas P., Kim W.Y., Somers D.E., Kay S.A. Targeted degradation of TOC1 by ZTL modulates circadian function in *Arabidopsis thaliana* // Nature.– 2003.– Vol. 426, № 6966.– P. 567–570.
 151. Matsushika A., Makino S., Kojima M., Mizuno T. Circadian waves of expression

- of the *APRR1/TOC1* family of pseudo-response regulators in *Arabidopsis thaliana*: insight into the plant circadian clock // *Plant Cell Physiol.*– 2000.– Vol. 41, № 9.– P. 1002–1012.
152. McClung C.R. Plant circadian rhythms // *Plant Cell.*– 2006.– Vol. 18, № 4.– P. 792–803.
 153. Michaels S.D., Amasino R.M. *FLOWERING LOCUS C* encodes a novel MADS domain protein that acts as a repressor of flowering // *Plant Cell.*– 1999.– Vol. 11, № 5.– P. 949–956.
 154. Michaels S.D., Amasino R.M. Loss of *FLOWERING LOCUS C* activity eliminates the late-flowering phenotype of *FRIGIDA* and autonomous pathway mutations but not responsiveness to vernalization // *Plant Cell.*– 2001.– Vol. 13, № 4.– P. 935–941.
 155. Milec Z., Valárik M., Bartoš J., Safář J. Can a late bloomer become an early bird? Tools for flowering time adjustment // *Biotechnol. Adv.*– 2014.– Vol. 32, № 1.– P. 200–214.
 156. Milner S.G., Maccaferri M., Huang B.E., Mantovani P., Massi A., Frascaroli E., Tuberosa R., Salvi S. A multiparental cross population for mapping QTL for agronomic traits in durum wheat (*Triticum turgidum* ssp. durum) // *Plant Biotechnol. J.*– 2015.– Vol. 14, № 2.– P. 735–748.
 157. Mizoguchi T., Wheatley K., Hanzawa Y., Wright L., Mizoguchi M., Song H.R., Carré I.A., Coupland G. *LHY* and *CCA1* are partially redundant genes required to maintain circadian rhythms in *Arabidopsis* // *Dev. Cell.*– 2002.– Vol. 2, № 5.– P. 629–641.
 158. Mizoguchi T., Wright L., Fujiwara S., Cremer F., Lee K., Onouchi H., Mouradov A., Fowler S., Kamada H., Putterill J., Coupland G. Distinct roles of *GIGANTEA* in promoting flowering and regulating circadian rhythms in *Arabidopsis* // *Plant Cell Online.*– 2005.– Vol. 17.– P. 2255–2270.
 159. Mizuno N., Kinoshita M., Kinoshita S., Nishida H., Fujita M., Kato K., Murai K., Nasuda S. Loss-of-function mutations in three homoeologous *PHYTOCLOCK 1* genes in common wheat are associated with the extra-early flowering phenotype // *PLoS One.*– 2016.– Vol. 11, № 10.– P. e0165618.
 160. Mohler V., Lukman R., Ortiz-Islas S., William M., Worland A.J., van Beem J.,

- Wenzel G. Genetic and physical mapping of photoperiod insensitive gene *Ppd-B1* in common wheat // *Euphytica*.– 2004.– Vol. 138, № 1.– P. 33–40.
161. Mongkolsiriwatana C., Pongtongkam P., Peyachoknagul S. In silico promoter analysis of photoperiod-responsive genes identified by DNA microarray in rice (*Oryza sativa* L.) // *J Nat Sci*.– 2009.– Vol. 43.– P. 164–177.
 162. Morishima A. Identification of preferred binding sites of a light-inducible DNA-binding factor (MNF1) within 5'-upstream sequence of C4-type phosphoenolpyruvate carboxylase gene in maize // *Plant Mol. Biol*.– 1998.– Vol. 38, № 4.– P. 633–646.
 163. Mutasa-Göttgens E., Hedden P. Gibberellin as a factor in floral regulatory networks // *J. Exp. Bot*.– 2009.– Vol. 60, № 7.– P. 1979–1989.
 164. 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*.– *BMC Plant Biology*, 2016.– Vol. 16, № S1.– P. 65–81.
 165. Nakamichi N., Kiba T., Henriques R., Mizuno T., Chua N.-H., Sakakibara H. PSEUDO-RESPONSE REGULATORS 9, 7, and 5 are transcriptional repressors in the Arabidopsis circadian clock // *Plant Cell*.– 2010.– Vol. 22, № 3.– P. 594–605.
 166. Nakamichi N., Kita M., Niinuma K., Ito S., Yamashino T., Mizoguchi T., Mizuno T. Arabidopsis clock-associated pseudo-response regulators PRR9, PRR7 and PRR5 coordinately and positively regulate flowering time through the canonical CONSTANS-dependent photoperiodic pathway // *Plant Cell Physiol*.– 2007.– Vol. 48, № 6.– P. 822–832.
 167. Neff M.M., Chory J. Genetic interactions between *phytochrome A*, *phytochrome B*, and *cryptochrome 1* during Arabidopsis development // *Plant Physiol*.– 1998.– Vol. 118, № 1.– P. 27–35.
 168. Nelson D.C., Lasswell J., Rogg L.E., Cohen M. a, Bartel B. *FKF1*, a clock-controlled gene that regulates the transition to flowering in Arabidopsis // *Cell*.– 2000.– Vol. 101, № 3.– P. 331–340.
 169. Nevo E., Korol A.B., Beiles A., Fahima T. Evolution of Wild emmer and wheat improvement: population genetics, genetic resources, and genome organization of wheat's progenitor, *Triticum dicoccoides*.– Berlin, Heidelberg: Springer Berlin

Heidelberg, 2002.

170. Ngai N., Tsai F.Y., Coruzzi G. Light-induced transcriptional repression of the pea *AS1* gene: identification of cis-elements and transactors // *Plant J.*– 1997.– Vol. 12, № 5.– P. 1021–1034.
171. Nishida H., Ishihara D., Ishii M., Kaneko T., Kawahigashi H., Akashi Y., Saisho D., Tanaka K., Handa H., Takeda K., Kato K. Phytochrome C is a key factor controlling long-day flowering in barley // *Plant Physiol.*– 2013.– Vol. 163, № October.– P. 804–814.
172. Nishida H., Yoshida T., Kawakami K., Fujita M., Long B., Akashi Y., Laurie D. A., Kato K. 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.– Vol. 31, № 1.– P. 27–37.
173. Nusinow D. A., Helfer A., Hamilton E.E., King J.J., Imaizumi T., Schultz T.F., Farré E.M., Kay S. A. The ELF4-ELF3-LUX complex links the circadian clock to diurnal control of hypocotyl growth // *Nature.*– 2011.– Vol. 475, № 7356.– P. 398–402.
174. Oda A., Fujiwara S., Kamada H., Coupland G., Mizoguchi T. Antisense suppression of the Arabidopsis PIF3 gene does not affect circadian rhythms but causes early flowering and increases FT expression // *FEBS Lett.*– 2004.– Vol. 557, № 1–3.– P. 259–264.
175. Ogihara Y., Shimizu H., Hasegawa K., Tsujimoto H., Sasakuma T. Chromosome assignment of four photosynthesis-related genes and their variability in wheat species // *Theor. Appl. Genet.*– 1994.– Vol. 88, № 3–4.– P. 383–394.
176. Oh E., Kim J., Park E., Kim J.-I., Kang C., Choi G. PIL5, a phytochrome-interacting basic helix-loop-helix protein, is a key negative regulator of seed germination in *Arabidopsis thaliana* // *Plant Cell.*– 2004.– Vol. 16, № 11.– P. 3045–3058.
177. Oliver S.N., Finnegan E.J., Dennis E.S., Peacock W.J., Trevaskis B. Vernalization-induced flowering in cereals is associated with changes in histone methylation at the *VERNALIZATION1* gene // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*– 2009.– Vol. 106, № 20.– P. 8386–8391.
178. Ouyang X., Li J., Li G., Li B., Chen B., Shen H., Huang X., Mo X., Wan X., Lin R., Li S., Wang H., Deng X.W. Genome-wide binding site analysis of FAR-RED ELONGATED HYPOCOTYL3 reveals its novel function in Arabidopsis

- development // *Plant Cell*.– 2011.– Vol. 23, № 7.– P. 2514–2535.
179. Para A., Farré E.M., Imaizumi T., Pruneda-Paz J.L., Harmon F.G., Kay S.A. PRR3 is a vascular regulator of TOC1 stability in the *Arabidopsis* circadian clock // *Plant Cell*.– 2007.– Vol. 19, № 11.– P. 3462–3473.
 180. Pearce S., Kippes N., Chen A., Debernardi J.M., Dubcovsky J. RNA-seq studies using wheat *PHYTOCHROME B* and *PHYTOCHROME C* mutants reveal shared and specific functions in the regulation of flowering and shade-avoidance pathways // *BMC Plant Biol.*– *BMC Plant Biology*, 2016.– Vol. 16, № 1.– P. 141.
 181. Pearce S., Vanzetti L.S., Dubcovsky J. Exogenous gibberellins induce wheat spike development under short days only in the presence of *VERNALIZATION1* // *Plant Physiol.*– 2013.– Vol. 163, № 3.– P. 1433–1445.
 182. Peng F.Y., Hu Z., Yang R. Genome-wide comparative analysis of flowering-related genes in *Arabidopsis*, Wheat, and Barley // *Int. J. Plant Genomics*.– 2015.– Vol. 2015.– P. 1–17.
 183. Perez-Lara E., Semagn K., Chen H., Iqbal M., N'Diaye A., Kamran A., Navabi A., Pozniak C., Spaner D. QTLs associated with agronomic traits in the Cutler x AC Barrie spring wheat mapping population using single nucleotide polymorphic markers // *PLoS One*.– 2016.– Vol. 11, № 8.– P. e0160623.
 184. Pérez-Ruiz R. V, García-Ponce B., Marsch-Martínez N., Ugartechea-Chirino Y., Villajuana-Bonequi M., de Folter S., et al. XAANTAL2 (AGL14) is an important component of the complex gene regulatory network that underlies *Arabidopsis* shoot apical meristem transitions // *Mol. Plant*.– 2015.– Vol. 8, № 5.– P. 796–813.
 185. Pfaffl M.W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR // *Nucleic Acids Res.*– 2001.– Vol. 29, № 9.– P. e45.
 186. Pidal B., Yan L., Fu D., Zhang F., Tranquilli G., Dubcovsky J. The CArG-box located upstream from the transcriptional start of wheat vernalization gene *VRN1* is not necessary for the vernalization response // *J. Hered.*– 2009.– Vol. 100, № 3.– P. 355–364.
 187. Pien S., Grossniklaus U. Polycomb group and trithorax group proteins in *Arabidopsis* // *Biochim. Biophys. Acta*.– 2007.– Vol. 1769, № 5–6.– P. 375–382.
 188. Porri A., Torti S., Romera-Branchat M., Coupland G. Spatially distinct regulatory roles for gibberellins in the promotion of flowering of *Arabidopsis* under long

- photoperiods // Development.– 2012.– Vol. 139, № 12.– P. 2198–2209.
189. Portolés S., Más P. Altered oscillator function affects clock resonance and is responsible for the reduced day-length sensitivity of *CKB4* overexpressing plants // Plant J.– 2007.– Vol. 51, № 6.– P. 966–977.
 190. Posé D., Verhage L., Ott F., Yant L., Mathieu J., Angenent G.C., Immink R.G.H., Schmid M. Temperature-dependent regulation of flowering by antagonistic FLM variants // Nature.– 2013.– Vol. 503, № 7476.– P. 414–417.
 191. Pruneda-Paz J.L., Breton G., Para A., Kay S.A. A functional genomics approach reveals CHE as a component of the Arabidopsis circadian clock // Science.– 2009.– Vol. 323, № 5920.– P. 1481–1485.
 192. Pshenichnikova T.A., Khlestkina E.K., Landjeva S., Doroshkov A. V., Kartseva T., Börner A., Simonov A. V., Shchukina L. V., Morozova E. V. Genetic dissection of earliness by analysis of a recombinant chromosome substitution double haploid mapping population of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) in different geographic regions // Euphytica.– 2015.– Vol. 206, № 1.– P. 191–202.
 193. Ramakers C., Ruijter J.M., Lekanne Deprez R.H., Moorman A.F.M. Assumption-free analysis of quantitative real-time polymerase chain reaction (PCR) data // Neurosci. Lett.– 2003.– Vol. 339, № 1.– P. 62–66.
 194. Ratcliffe O.J., Kumimoto R.W., Wong B.J., Riechmann J.L. Analysis of the Arabidopsis MADS AFFECTING FLOWERING gene family: *MAF2* prevents vernalization by short periods of cold // Plant Cell.– 2003.– Vol. 15, № 5.– P. 1159–1169.
 195. Rawat R., Schwartz J., Jones M. a, Sairanen I., Cheng Y., Andersson C.R., Zhao Y., Ljung K., Harmer S.L. REVEILLE1, a Myb-like transcription factor, integrates the circadian clock and auxin pathways // Proc. Natl. Acad. Sci.– 2009.– Vol. 106, № 39.– P. 16883–16888.
 196. Rawat R., Takahashi N., Hsu P.Y., Jones M.A., Schwartz J., Salemi M.R., Phinney B.S., Harmer S.L. REVEILLE8 and PSEUDO-RESPONSE REGULATOR5 form a negative feedback loop within the Arabidopsis circadian clock // PLoS Genet.– 2011.– Vol. 7, № 3.– P. e1001350.
 197. Roder M.S., Korzun V., Wendehake K., Plaschke J., Leroy P., Ganal M.W. A Microsatellite Map of Wheat // Genetics.– 1998.– Vol. 149.– P. 2007–2023.

198. Ronin Y., Mester D., Minkov D., Korol A. Building reliable genetic maps: different mapping strategies may result in different maps // Nat. Sci.– 2010.– Vol. 2, № 6.– P. 576–589.
199. Ronin Y., Minkov D., Mester D., Akhunov E., Korol A. Building ultra-dense genetic maps in the presence of genotyping errors and missing data // Proc. 12 Intern. Wheat Genetics Symp. Yokohama.– 2013.
200. Rugnone M.L., Faigón Soverna A., Sanchez S.E., Schlaen R.G., Hernando C.E., Seymour D.K., Mancini E., Chernomoretz A., Weigel D., Más P., Yanovsky M.J. *LNK* genes integrate light and clock signaling networks at the core of the Arabidopsis oscillator // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.– 2013.– Vol. 110, № 29.– P. 12120–12125.
201. Rushton D.L., Tripathi P., Rabara R.C., Lin J., Ringler P., Boken A.K., Langum T.J., Smidt L., Boomsma D.D., Emme N.J., Chen X., Finer J.J., Shen Q.J., Rushton P.J. WRKY transcription factors: Key components in abscisic acid signalling // Plant Biotechnol. J.– 2012.– Vol. 10, № 1.– P. 2–11.
202. Ryu C.-H., Lee S., Cho L.-H., Kim S.L., Lee Y.-S., Choi S.C., Jeong H.J., Yi J., Park S.J., Han C.-D., An G. *OsMADS50* and *OsMADS56* function antagonistically in regulating long day (LD)-dependent flowering in rice // Plant. Cell Environ.– 2009.– Vol. 32, № 10.– P. 1412–1427.
203. Sawa M., Nusinow D.A., Kay S.A., Imaizumi T. FKF1 and GIGANTEA complex formation is required for day-length measurement in Arabidopsis // Science.– 2007.– Vol. 318, № 5848.– P. 261–265.
204. Scarth R., Law C.N. The location of the photoperiod gene, *Ppd2* and an additional genetic factor for ear-emergence time on chromosome 2B of wheat // Heredity (Edinb).– 1983.– Vol. 51, № 3.– P. 607–619.
205. Schönrock N., Bouveret R., Leroy O., Borghi L., Köhler C., Gruissem W., Hennig L. Polycomb-group proteins repress the floral activator AGL19 in the FLC-independent vernalization pathway // Genes Dev.– 2006.– Vol. 20, № 12.– P. 1667–1678.
206. Schulze-Lefert P., Dangl J.L., Becker-André M., Hahlbrock K., Schulz W. Inducible in vivo DNA footprints define sequences necessary for UV light activation of the parsley chalcone synthase gene // EMBO J.– 1989.– Vol. 8, № 3.–

- P. 651–656.
207. Scortecci K., Michaels S.D., Amasino R.M. Genetic interactions between *FLM* and other flowering-time genes in *Arabidopsis thaliana* // Plant Mol. Biol.– 2003.– Vol. 52, № 5.– P. 915–922.
 208. Scortecci K.C., Michaels S.D., Amasino R.M. Identification of a MADS-box gene, *FLOWERING LOCUS M*, that represses flowering // Plant J.– 2001.– Vol. 26, № 2.– P. 229–236.
 209. Seki M., Chono M., Matsunaka H., Fujita M., Oda S., Kubo K., Kiribuchi-Otobe C., Kojima H., Nishida H., Kato K. Distribution of photoperiod-insensitive alleles *Ppd-B1a* and *Ppd-D1a* and their effect on heading time in Japanese wheat cultivars // Breed. Sci.– 2011.– Vol. 61, № 4.– P. 405–412.
 210. Shaw L.M., Turner A.S., Herry L., Griffiths S., Laurie D.A. Mutant alleles of *Photoperiod-1* in wheat (*Triticum aestivum* L.) that confer a late flowering phenotype in long days // PLoS One.– 2013.– Vol. 8, № 11.– P. e79459.
 211. Shaw L.M., Turner A.S., Laurie D. A. The impact of photoperiod insensitive *Ppd-1a* mutations on the photoperiod pathway across the three genomes of hexaploid wheat (*Triticum aestivum*) // Plant J.– 2012.– Vol. 71, № 1.– P. 71–84.
 212. 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.– Vol. 29, № 3.– P. 675–685.
 213. Shcherban A.B., Khlestkina E.K., Efremova T.T., 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.– Vol. 141, № 4–6.– P. 133–141.
 214. Sheldon C.C., Burn J.E., Perez P.P., Metzger J., Edwards J.A., Peacock W.J., Dennis E.S. The *FLF* MADS box gene: a repressor of flowering in *Arabidopsis* regulated by vernalization and methylation // Plant Cell.– 1999.– Vol. 11, № 3.– P. 445–458.
 215. Sheldon C.C., Rouse D.T., Finnegan E.J., Peacock W.J., Dennis E.S. The molecular basis of vernalization: the central role of *FLOWERING LOCUS C (FLC)*. // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.– 2000.– Vol. 97, № 7.– P. 3753–3758.
 216. Shin J., Park E., Choi G. PIF3 regulates anthocyanin biosynthesis in an HY5-

- dependent manner with both factors directly binding anthocyanin biosynthetic gene promoters in *Arabidopsis* // *Plant J.*– 2007.– Vol. 49, № 6.– P. 981–994.
217. Shirdelmoghanloo H., Taylor J.D., Lohraseb I., Rabie H., Brien C., Timmins A., Martin P., et al. A QTL on the short arm of wheat (*Triticum aestivum* L.) chromosome 3B affects the stability of grain weight in plants exposed to a brief heat shock early in grain filling // *BMC Plant Biol.*– *BMC Plant Biology*, 2016.– Vol. 16, № 1.– P. 100.
 218. Shitsukawa N., Tahira C., Kassai K. -i., Hirabayashi C., Shimizu T., Takumi S., Mochida K., Kawaura K., Ogihara Y., Murai K. Genetic and epigenetic alteration among three homoeologous genes of a class E MADS box gene in hexaploid wheat // *Plant Cell.*– 2007.– Vol. 19.– P. 1723–1737.
 219. Simpson G.G. *Arabidopsis*, the rosetta stone of flowering time? // *Science.*– 2002.– Vol. 296, № 5566.– P. 285–289.
 220. Simpson G.G. The autonomous pathway: Epigenetic and post-transcriptional gene regulation in the control of *Arabidopsis* flowering time // *Curr. Opin. Plant Biol.*– 2004.– Vol. 7, № 5.– P. 570–574.
 221. Slafer G.A., Rawson H.M. Sensitivity of wheat phasic development to major environmental factors: a reexamination of some assumptions made by physiologists and modellers // *Aust. J. Plant Physiol.*– 1994.– Vol. 21, № 4.– P. 393–426.
 222. Snape J.W., Quarrie S. a., Laurie D. A. Comparative mapping and its use for the genetic analysis of agronomic characters in wheat // *Euphytica.*– 1996.– Vol. 89, № 1.– P. 27–31.
 223. Somers D.E., Kim W., Geng R. The F-Box Protein ZEITLUPE confers dosage-dependent control on the circadian clock, photomorphogenesis , and flowering time // *Plant Cell.*– 2004.– Vol. 16, № March.– P. 769–782.
 224. Song Q.J., Shi J.R., Singh S., Fickus E.W., Costa J.M., Lewis J., Gill B.S., Ward R., Cregan P.B. Development and mapping of microsatellite (SSR) markers in wheat // *Theor. Appl. Genet.*– 2005.– Vol. 110, № 3.– P. 550–560.
 225. Song Y.H., Ito S., Imaizumi T. Flowering time regulation: photoperiod- and temperature-sensing in leaves // *Trends Plant Sci.*– Elsevier Ltd, 2013.– Vol. 18, № 10.– P. 575–583.
 226. Song Y.H., Shim J.S., Kinmonth-Schultz H. a., Imaizumi T. Photoperiodic

- flowering: time measurement mechanisms in leaves // *Annu. Rev. Plant Biol.*— 2015.— Vol. 66, № December 2014.— P. 1–24.
227. Song Y.H., Smith R.W., To B.J., Millar A.J., Imaizumi T. FKF1 conveys timing information for CONSTANS stabilization in photoperiodic flowering // *Science.*— 2012.— Vol. 336, № 6084.— P. 1045–1049.
 228. Sosnowski O., Charcosset A., Joets J. BiomeRCator V3: An upgrade of genetic map compilation and quantitative trait loci meta-analysis algorithms // *Bioinformatics.*— 2012.— Vol. 28, № 15.— P. 2082–2083.
 229. Sourdille P., Singh S., Cadalen T., Brown-Guedira G.L., Gay G., Qi L., Gill B.S., Dufour P., Murigneux A., Bernard M. Microsatellite-based deletion bin system for the establishment of genetic-physical map relationships in wheat (*Triticum aestivum* L.) // *Funct. Integr. Genomics.*— 2004.— Vol. 4, № 1.— P. 12–25.
 230. Strayer C., Oyama T., Schultz T.F., Raman R., Somers D.E., Más P., Panda S., Kreps J.A., Kay S.A. Cloning of the Arabidopsis clock gene *TOC1*, an autoregulatory response regulator homolog // *Science.*— 2000.— Vol. 289, № 5480.— P. 768–771.
 231. Suárez-López P., Wheatley K., Robson F., Onouchi H., Valverde F., Coupland G. CONSTANS mediates between the circadian clock and the control of flowering in Arabidopsis // *Nature.*— 2001.— Vol. 410, № 6832.— P. 1116–1120.
 232. Sugano S., Andronis C., Green R.M., Wang Z.Y., Tobin E.M. Protein kinase CK2 interacts with and phosphorylates the Arabidopsis circadian clock-associated 1 protein // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*— 1998.— Vol. 95, № 18.— P. 11020–11025.
 233. Suge H., Yamada N. Flower-promoting effect of gibberellin in winter wheat and barley // *Plant Cell Physiol.*— 1965.— Vol. 6, № 2.— P. 147–160.
 234. Sung S., Amasino R.M. Molecular genetic studies of the memory of winter // *J. Exp. Bot.*— 2006.— Vol. 57, № 13.— P. 3369–3377.
 235. Szucs P., Karsai I., von Zitzewitz J., Mészáros K., Cooper L.L.D., Gu Y.Q., Chen T.H.H., Hayes P.M., Skinner J.S. Positional relationships between photoperiod response QTL and photoreceptor and vernalization genes in barley // *Theor. Appl. Genet.*— 2006.— Vol. 112, № 7.— P. 1277–1285.
 236. Tahmasebi S., Heidari B., Pakniyat H., McIntyre C.L., Lukens L. Mapping QTLs associated with agronomic and physiological traits under terminal drought and heat

- stress conditions in wheat (*Triticum aestivum* L.) // Genome.– 2017.– Vol. 60, № 1.– P. 26–45.
237. Taiz L., Zeiger E. Plant Physiology // 5th Edition.– Sinauer Associates, 2002.– 690 p.
 238. Takahashi Y., Shomura A., Sasaki T., Yano M. Hd6, a rice quantitative trait locus involved in photoperiod sensitivity, encodes the alpha subunit of protein kinase CK2 // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.– 2001.– Vol. 98, № 14.– P. 7922–7927.
 239. Takahashi Y., Teshima K.M., Yokoi S., Innan H., Shimamoto K. Variations in Hd1 proteins, Hd3a promoters, and Ehd1 expression levels contribute to diversity of flowering time in cultivated rice // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.– 2009.– Vol. 106, № 11.– P. 4555–4560.
 240. Takase T., Nishiyama Y., Tanihigashi H., Ogura Y., Miyazaki Y., Yamada Y., Kiyosue T. LOV KELCH PROTEIN2 and ZEITLUPE repress Arabidopsis photoperiodic flowering under non-inductive conditions, dependent on FLAVIN-BINDING KELCH REPEAT F - BOX1 // Plant J.– 2011.– Vol. 67, № 4.– P. 608–621.
 241. Takeda T., Toyofuku K., Matsukura C., Yamaguchi J. Sugar transporters involved in flowering and grain development of rice // J. Plant Physiol.– 2001.– Vol. 158, № 4.– P. 465–470.
 242. Taketa S., Takeda K. Expression of dominant marker genes of barley in wheat-barley hybrids // Genes Genet. Syst.– 1997.– Vol. 72, № 2.– P. 101–106.
 243. Talanova V. V., Titov a. F., Topchieva L. V., Malysheva I.E., Venzhik Y.V., Frolova S.A. Expression of WRKY transcription factor and stress protein genes in wheat plants during cold hardening and ABA treatment // Russ. J. Plant Physiol.– 2009.– Vol. 56, № 5.– P. 702–708.
 244. Tepperman J.M., Zhu T., Chang H.S., Wang X., Quail P.H. Multiple transcription-factor genes are early targets of phytochrome A signaling // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.– 2001.– Vol. 98, № 16.– P. 9437–9442.
 245. Terzaghi W.B., Cashmore A.R. Light-Regulated Transcription // Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.– 1995.– Vol. 46.– P. 445–474.
 246. Thines B.C., Youn Y., Duarte M.I., Harmon F.G. The time of day effects of warm temperature on flowering time involve *PIF4* and *PIF5* // J. Exp. Bot.– 2014.– Vol.

- 65, № 4.– P. 1141–1151.
247. Timonova E.M., Dobrovol'skaya O.B., Sergeeva E.M., Bildanova L.L., Sourdille P., Feuillet C., Salina E. A. A Comparative Genetic and Cytogenetic Mapping of Wheat Chromosome 5B Using Introgression Lines // Russ. J. of Genet.– 2013.– Vol. 49, № 12.– P. 1376–1384.
 248. Tóth B., Galiba G., Fehér E., Sutka J., Snape J.W. Mapping genes affecting flowering time and frost resistance on chromosome 5B of wheat // Theor. Appl. Genet.– 2003.– Vol. 107, № 3.– P. 509–514.
 249. Trevaskis B., Bagnall D.J., Ellis M.H., Peacock W.J., Dennis E.S. MADS box genes control vernalization-induced flowering in cereals // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.– 2003.– Vol. 100, № 22.– P. 13099–13104.
 250. Trevaskis B., Hemming M.N., Dennis E.S., Peacock W.J. The molecular basis of vernalization-induced flowering in cereals // Trends Plant Sci.– 2007.– Vol. 12, № 8.– P. 352–357.
 251. Turner A.S., Faure S., Zhang Y., Laurie D. A. The effect of day-neutral mutations in barley and wheat on the interaction between photoperiod and vernalization // Theor. Appl. Genet.– 2013.– Vol. 126, № 9.– P. 2267–2277.
 252. Valverde F., Mouradov A., Soppe W., Ravenscroft D., Samach A., Coupland G. Photoreceptor regulation of CONSTANS protein in photoperiodic flowering // Science.– 2004.– Vol. 303, № 5660.– P. 1003–1006.
 253. Voorrips R.E. MapChart: software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs // J. Hered.– 2002.– Vol. 93, № 1.– P. 77–78.
 254. Wahl V., Ponnu J., Schlereth A., Arrivault S., Langenecker T., Franke A., Feil R., Lunn J.E., Stitt M., Schmid M. Regulation of flowering by Trehalose-6-Phosphate signaling in *Arabidopsis thaliana* // Science.– 2013.– Vol. 339, № 6120.– P. 704–707.
 255. Wang H., Hao J., Chen X., Hao Z., Wang X., Lou Y., Peng Y., Guo Z. Overexpression of rice *WRKY89* enhances ultraviolet B tolerance and disease resistance in rice plants // Plant Mol. Biol.– 2007.– Vol. 65, № 6.– P. 799–815.
 256. Wang J., Wen W., Hanif M., Xia X., Wang H., Liu S., Liu J., Yang L., Cao S., He Z. *TaELF3-1DL*, a homolog of *ELF3*, is associated with heading date in bread wheat // Mol. Breed.– 2016.– Vol. 36, № 12.– P. 161.

257. Wang J.W. Regulation of flowering time by the miR156-mediated age pathway // J. Exp. Bot.– 2014.– Vol. 65, № 17.– P. 4723–4730.
258. Wang R., Wu H.-L., Zhang M., Zhong-Fu N., Sun Q.-X. Cloning, characterization and transgenic function analysis of Wheat (*Triticum aestivum* L.) *TaWRKY51* gene // J. Agric. Biotechnol.– 2013.– Vol. 21, № 9.– P. 1019–1027.
259. Wang S., Wong D., Forrest K., Allen A., Chao S., Huang B.E., Maccaferri M., et al., Characterization of polyploid wheat genomic diversity using a high-density 90 000 single nucleotide polymorphism array // Plant Biotechnol. J.– 2014.– Vol. 12, № 6.– P. 787–796.
260. Wang Y., Wu J.-F., Nakamichi N., Sakakibara H., Nam H.-G., Wu S.-H. *LIGHT-REGULATED WD1* and *PSEUDO-RESPONSE REGULATOR9* form a positive feedback regulatory loop in the Arabidopsis circadian clock // Plant Cell.– 2011.– Vol. 23, № 2.– P. 486–498.
261. Wenkel S., Turck F., Singer K., Gissot L., Le Gourrierec J., Samach A., Coupland G. CONSTANS and the CCAAT box binding complex share a functionally important domain and interact to regulate flowering of Arabidopsis // Plant Cell.– 2006.– Vol. 18, № 11.– P. 2971–2984.
262. Wiebe K., Harris N.S., Faris J.D., Clarke J.M., Knox R.E., Taylor G.J., Pozniak C.J. Targeted mapping of Cdu1, a major locus regulating grain cadmium concentration in durum wheat (*Triticum turgidum* L. var durum) // Theor. Appl. Genet.– 2010.– Vol. 121, № 6.– P. 1047–1058.
263. Wilhelm E.P., Turner A.S., Laurie D.A. Photoperiod insensitive *Ppd-A1a* mutations in tetraploid wheat (*Triticum durum* Desf.) // Theor. Appl. Genet.– 2009.– Vol. 118, № 2.– P. 285–294.
264. Wilson R.N., Heckman J.W., Somerville C.R. Gibberellin is required for flowering in *Arabidopsis thaliana* under short days // Plant Physiol.– 1992.– Vol. 100, № 1.– P. 403–408.
265. Worland A.J. The importance of Italian wheats to worldwide varietal improvement [*Triticum aestivum* L.] // J. Genet. Breed.– 1999.– Vol. 53.– P. 165–173.
266. Worland A.J. The influence of flowering time genes on environmental adaptability in European wheats Vernalization sensitivity // Euphytica.– 1996.– Vol. 89, № 1.– P. 49–57.

267. Worland A.J., Borner A., Korzun V., Li W.M., Petrovic S., Sayers E.J. The influence of photoperiod genes on the adaptability of European winter wheats // *Euphytica*.– 1998.– Vol. 100.– P. 385–394.
268. Worland T., Snape J.W. Genetic basis of worldwide wheat varietal improvement // *The World Wheat Book: A history of wheat breeding*.– Paris: Lavoisier Publishing, 2001.– P. 61–67.
269. Wu J.-F., Wang Y., Wu S.-H. Two new clock proteins, LWD1 and LWD2, regulate *Arabidopsis* photoperiodic flowering // *Plant Physiol.*– 2008.– Vol. 148, № 2.– P. 948–959.
270. Wu L., Liu D., Wu J., Zhang R., Qin Z., Liu D., Li A., Fu D., Zhai W., Mao L. Regulation of *FLOWERING LOCUS T* by a MicroRNA in *Brachypodium distachyon* // *Plant Cell*.– 2013.– Vol. 25, № 11.– P. 4363–4377.
271. Xiang Y.Z., Mao S.L., Jia R.L., Chun M.G., Xian S.Z. The wheat *TaGI1*, involved in photoperiodic flowering, encodes an *Arabidopsis* GI ortholog // *Plant Mol. Biol.*– 2005.– Vol. 58, № 1.– P. 53–64.
272. Xiao J., Xu S., Li C., Xu Y., Xing L., Niu Y., Huan Q., Tang Y., Zhao C., Wagner D., Gao C., Chong K. O-GlcNAc-mediated interaction between VER2 and TaGRP2 elicits *TaVRN1* mRNA accumulation during vernalization in winter wheat // *Nat. Commun.*– Nature Publishing Group, 2014.– Vol. 5.– P. 4572.
273. Xie Q., Wang P., Liu X., Yuan L., Wang L., Zhang C., Li Y., Xing H., Zhi L., Yue Z., Zhao C., McClung C.R., Xu X. LNK1 and LNK2 Are Transcriptional coactivators in the *Arabidopsis* circadian oscillator // *Plant Cell*.– 2014.– Vol. 26, № 7.– P. 2843–2857.
274. Xu Q., Feng W.J., Peng H.R., Ni Z.F., Sun Q.X. *TaWRKY71*, a WRKY transcription factor from Wheat, enhances tolerance to abiotic stress in transgenic *Arabidopsis thaliana* // *Cereal Res. Commun.*– 2014.– Vol. 42, № 1.– P. 47–57.
275. Yadav V., Mallappa C., Gangappa S.N., Bhatia S., Chattopadhyay S. A basic helix-loop-helix transcription factor in *Arabidopsis*, MYC2, acts as a repressor of blue light-mediated photomorphogenic growth // *Plant Cell*.– 2005.– Vol. 17, № 7.– P. 1953–1966.
276. Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K. Transcriptional regulatory networks in cellular responses and tolerance to dehydration and cold stresses // *Annu. Rev. Plant*

- Biol.– 2006.– Vol. 57.– P. 781–803.
277. Yamamoto Y.Y., Ichida H., Matsui M., Obokata J., Sakurai T., Satou M., Seki M., Shinozaki K., Abe T. Identification of plant promoter constituents by analysis of local distribution of short sequences // BMC Genomics.– 2007.– Vol. 8.– P. 67.
 278. Yan L., Fu D., Li C., Blechl a, Tranquilli G., Bonafede M., Sanchez a, Valarik M., Yasuda S., Dubcovsky J. The wheat and barley vernalization gene *VRN3* is an orthologue of *FT* // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.– 2006.– Vol. 103, № 51.– P. 19581–19586.
 279. Yan L., Helguera M., Kato K., Fukuyama S., Sherman J., Dubcovsky J. Allelic variation at the *VRN-1* promoter region in polyploid wheat // Theor. Appl. Genet.– 2004.– Vol. 109, № 8.– P. 1677–1686.
 280. Yan L., Loukoianov A., Tranquilli G., Helguera M., Fahima T., Dubcovsky J. Positional cloning of the wheat vernalization gene *VRN1*. // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.– 2003.– Vol. 100, № 10.– P. 6263–6268.
 281. Yang S., Murphy R.L., Morishige D.T., Klein P.E., Rooney W.L., Mullet J.E. Sorghum Phytochrome B inhibits flowering in long days by activating expression of *SbPRR37* and *SbGHD7*, repressors of *SbEHD1*, *SbCN8* and *SbCN12* // PLoS One.– 2014.– Vol. 9, № 8.– P. e105352.
 282. Yasui Y., Mukougawa K., Uemoto M., Yokofuji a., Suzuri R., Nishitani A., Kohchi T. The Phytochrome-Interacting VASCULAR PLANT ONE-ZINC FINGER1 and VOZ2 redundantly regulate flowering in Arabidopsis // Plant Cell.– 2012.– Vol. 24, № August.– P. 3248–3263.
 283. Yoshida T., Nishida H., Zhu J., Nitcher R., Distelfeld A., Akashi Y., Kato K., Dubcovsky J. *Vrn-D4* is a vernalization gene located on the centromeric region of chromosome 5D in hexaploid wheat // Theor. Appl. Genet.– 2010.– Vol. 120, № 3.– P. 543–552.
 284. Yu C.-W., Liu X., Luo M., Chen C., Lin X., Tian G., Lu Q., Cui Y., Wu K. HISTONE DEACETYLASE6 interacts with FLOWERING LOCUS D and regulates flowering in Arabidopsis // Plant Physiol.– 2011.– Vol. 156, № 1.– P. 173–184.
 285. Yu J.W., Rubio V., Lee N.Y., Bai S., Lee S.Y., Kim S.S., Liu L., Zhang Y., Irigoyen M.L., Sullivan J.A., Zhang Y., Lee I., Xie Q., Paek N.C., Deng X.W. *COP1* and

- ELF3* control circadian function and photoperiodic flowering by regulating GI stability // Mol. Cell.– 2008.– Vol. 32, № 5.– P. 617–630.
286. Yu M., Chen G.-Y., Pu Z.-E., Zhang L.-Q., Liu D.-C., Lan X.-J., Wei Y.-M., Zheng Y.-L. Quantitative trait locus mapping for growth duration and its timing components in wheat // Mol. Breed.– 2015.– Vol. 35, № 1.– P. 44.
 287. Yu Y., Hu R., Wang H., Cao Y., He G., Fu C., Zhou G. *MIWRKY12*, a novel *Miscanthus* transcription factor, participates in pith secondary cell wall formation and promotes flowering // Plant Sci.– Elsevier Ireland Ltd, 2013.– Vol. 212.– P. 1–9.
 288. Zanke C., Ling J., Plieske J., Kollers S., Ebmeyer E., Korzun V., Argillier O., Stiewe G., Hinze M., Beier S., Ganai M.W., Röder M.S. Genetic architecture of main effect QTL for heading date in European winter wheat // Front. Plant Sci.– 2014.– Vol. 5.– P. 1–12.
 289. Zhang W., Zhao G., Gao L., Kong X., Guo Z., Wu B., Jia J. Functional studies of heading date-related gene *TaPRR73*, a paralog of *Ppd1* in common wheat // Front. Plant Sci.– 2016.– Vol. 7, № June.– P. 1–11.
 290. Zhang X.K., Xiao Y.G., Zhang Y., Xia X.C., Dubcovsky J., He Z.H. 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.– Vol. 48, № 2.– P. 458–470.
 291. Zhang Z., Chen J., Su Y., Liu H., Chen Y., Luo P., Du X., Wang D., Zhang H. TaLHY, a 1R-MYB transcription factor, plays an important role in disease resistance against stripe rust fungus and ear heading in wheat // PLoS One.– 2015.– Vol. 10, № 5.– P. 1–13.
 292. Zhao T., Ni Z., Dai Y., Yao Y., Nie X., Sun Q. Characterization and expression of 42 MADS-box genes in wheat (*Triticum aestivum* L.) // Mol. Genet. Genomics.– 2006.– Vol. 276, № 4.– P. 334–350.
 293. Zhao X.Y., Hong P., Wu J.Y., Chen X. Bin, Ye X.G., Pan Y.Y., Wang J., Zhang X.S. The tae-miR408-mediated control of *TaTOC1* genes transcription is required for the regulation of heading time in wheat // Plant Physiol.– 2016.– Vol. 170, № 3.– P. 1578–1594.
 294. Zhu X., Liu S., Meng C., Qin L., Kong L., Xia G. WRKY transcription factors in

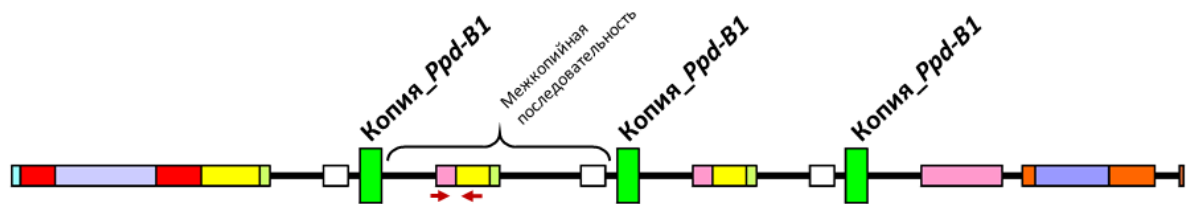
- wheat and their induction by biotic and abiotic stress // Plant Mol. Biol. Report.– 2013.– Vol. 31, № 5.– P. 1053–1067.
295. Zhuang J., Peng R.-H., Cheng Z.-M., Zhang J., Cai B., Zhang Z., Gao F., Zhu B., Fu X.-Y., Jin X.-F., Chen J.-M., Qiao Y.-S., Xiong A.-S., Yao Q.-H. Genome-wide analysis of the putative AP2/ERF family genes in *Vitis vinifera* // Sci. Hortic.– 2009.– Vol. 123, № 1.– P. 73–81.
 296. Zikhali M., Leverington-Waite M., Fish L., Simmonds J., Orford S., Wingen L.U., Goram R., Gosman N., Bentley A., Griffiths S. Validation of a 1DL earliness *per se* (*eps*) flowering QTL in bread wheat (*Triticum aestivum*) // Mol. Breed.– 2014.– Vol. 34, № 3.– P. 1023–1033.
 297. Zikhali M., Wingen L.U., Griffiths S. Delimitation of the Earliness *per se* D1 (*Eps-D1*) flowering gene to a subtelomeric chromosomal deletion in bread wheat (*Triticum aestivum*) // J. Exp. Bot.– 2016.– Vol. 67, № 1.– P. 287–299.
 298. Zou J., Semagn K., Iqbal M., Chen H., Asif M., N'Diaye A., Navabi A., Perez-Lara E., Pozniak C., Yang R.-C., Randhawa H., Spaner D. QTLs associated with agronomic traits in the Attila × CDC Go spring wheat population evaluated under conventional management // PLoS One.– 2017.– Vol. 12, № 2.– P. e0171528.
 299. Zou J., Semagn K., Iqbal M., N'Diaye A., Chen H., Asif M., Navabi A., Perez-Lara E., Pozniak C., Yang R.-C., Randhawa H., Spaner D. Mapping QTLs Controlling Agronomic Traits in the “Attila” × “CDC Go” Spring Wheat Population under Organic Management using 90K SNP Array // Crop Sci.– 2017.– Vol. 57, № 1.– P. 365.
 300. Ермилова Е.В., Залуцкая Ж.М., Лапина Т.В., Матвеева Т.В. Количественный анализ экспрессии генов.– СПб: ТЕССА, 2010.– 104 стр.
 301. Злотина М.М., Киселева А.А., Потокина Е.К. Использование аллель-специфичных маркеров генов *Vrn* и *Ppd* для экспресс-диагностики фотопериодической чувствительности и потребности в яровизации мягкой пшеницы и ячменя. Методические указания.– СПб: ВИР, 2012.– 29 стр.
 302. Киселева А.А., Егги Э.Э., Кошкин В.А., Ситников М.Н., Родер М., Салина Е.А., Потокина Е.К. Выявление генетических детерминант, определяющих различие почти изогенных линий *Triticum aestivum* L. по фотопериодической чувствительности // Генетика.– 2014.– Т. 50, № 7.– С. 802–813.

303. Кошкин В.А., Лискер И.С., Мережко А.Ф., Косерева И.А., Драгавцев В.А. Влияние генов *Ppd* на фитохром, фотопериодическую чувствительность, рост и развитие изогенных линий пшеницы // Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук.– 2004.– Т. 1.– С. 3–4.
304. Кошкин В.А., Мережко А.Ф., Матвиенко И.И. Влияние фотопериода и генов *Ppd* на морфофизиологические признаки гомозиготных линий пшеницы с различной фотопериодической чувствительностью // Доклады РАСХН.– 1998.– Т. 4.– С. 8–10.
305. Лысенко Н.С., Киселева А.А., Митрофанова О.П., Потокина Е.К. Каталог мировой коллекции ВИР. Мягкая пшеница. Молекулярное тестирование аллелей *Vrn*- и *Ppd*-генов у допущенных к использованию в Российской Федерации селекционных сортов.– СПб: ВИР, 2014.– 30 стр.
306. Майстренко О.И. Локализация хромосом, несущих гены *Vrn-1* и *Vrn-3*, подавляющие озимости у пшеницы // Цитологические исследования анеуплоидных мягких пшениц.– Новосибирск: Институт цитологии и генетики СО АН СССР, 1973.– С. 169–177.
307. Мережко А.Ф., Кошкин В.А., Матвиенко И.И. Исходный материал для создания серии почти изогенных линий мягкой пшеницы с различной фотопериодической чувствительностью // Генетика.– 1997.– Т. 33, № 4.– С. 384–393.
308. Потокина Е.К., Кошкин В.А., Алексеева Е.А., Матвиенко И.И., Филобок В.А., Беспалова Л.А. 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.

Приложения

Приложение 1. Гипотетическая структура аллеля *Ppd-B1a* как у сортов Sonora 64 и Timstein (Díaz et al., 2012).

Копии *PPD-B1* генов (экзоны и интроны) представлены высокими зелеными прямоугольниками. Небольшие цветные прямоугольники обозначают различные транспозоны. Красные стрелки под последовательностью обозначают сайты связывания праймеров для выявления межкопийной последовательности, характерной для данного аллеля.



Приложение 2. Список идентифицированных в 2013 – 2017 годах QTL (локусов количественных признаков), ассоциированных с временем цветения пшеницы.

Признак	Обозначение QTL	Хромосома	Ближайший маркер/интервал	Ссылка
heading date		1A	GWM3094_253	(Zanke et al., 2014)
heading date		1B	GWM1130_109	(Zanke et al., 2014)
heading date		1B	GWM1130_115	(Zanke et al., 2014)
heading date		1B	BARC0081_184	(Zanke et al., 2014)
heading date		1B	BARC0081_187	(Zanke et al., 2014)
heading date		1D	WMC0732c_295	(Zanke et al., 2014)
heading date		2A	BARC0212_233	(Zanke et al., 2014)
heading date		2A	WMC0177_212	(Zanke et al., 2014)
heading date		2A	WMC0522_200	(Zanke et al., 2014)
heading date		2B	GWM4167_217	(Zanke et al., 2014)
heading date		2D	Ppd_sen	(Zanke et al., 2014)
heading date		2D	Ppd_ins	(Zanke et al., 2014)
heading date		3A	WMC0264_141	(Zanke et al., 2014)
heading date		3B	WMC0808_147	(Zanke et al., 2014)
heading date		4B	GWM4636_233	(Zanke et al., 2014)
heading date		4D	WMC0285_293	(Zanke et al., 2014)
heading date		5A	GWM0291_176	(Zanke et al., 2014)
heading date		5B	WMC0160b_137	(Zanke et al., 2014)
heading date		5B	WMC0160b_190	(Zanke et al., 2014)
heading date		5B	BARC0232_232	(Zanke et al., 2014)
heading date		5B	BARC0059_194	(Zanke et al., 2014)
heading date		5B	GWM1257_246	(Zanke et al., 2014)
heading date		5D	GWM1462_183	(Zanke et al., 2014)
heading date		5D	WMC0215_208	(Zanke et al., 2014)
heading date		5D	BARC0322_235	(Zanke et al., 2014)
heading date		5D	GDM0063_147	(Zanke et al., 2014)
heading date		5D	WMC0161b_184	(Zanke et al., 2014)
heading date		6B	GWM0825b_122	(Zanke et al., 2014)
heading date		6D	GWM1391_158	(Zanke et al., 2014)
heading date		6D	GWM1391_160	(Zanke et al., 2014)
heading date		6D	CFD0019c_313	(Zanke et al., 2014)
heading date		7A	GWM0942_130	(Zanke et al., 2014)
heading date		7B	GWM0983b_130	(Zanke et al., 2014)
heading date		7B	GWM0983b_133	(Zanke et al., 2014)
heading date		7D	GWM4335_212	(Zanke et al., 2014)
heading date		7D	GWM3062_192	(Zanke et al., 2014)
heading date		7D	GWM0428_145	(Zanke et al., 2014)
photoperiod sensitivity		2D	PpdD1.PromDel	(Bogard et al., 2014)
photoperiod sensitivity		2D	cfn5828	(Bogard et al., 2014)
photoperiod sensitivity		3B	gpn1107	(Bogard et al., 2014)
photoperiod sensitivity		6A	wPt-7063	(Bogard et al., 2014)
photoperiod sensitivity		2B	cfn5539	(Bogard et al., 2014)
photoperiod sensitivity		7A	cfn4818	(Bogard et al., 2014)

photoperiod sensitivity		5A	cfm4764	(Bogard et al., 2014)
photoperiod sensitivity		6B	cfm5634	(Bogard et al., 2014)
photoperiod sensitivity		5B	cfm5055	(Bogard et al., 2014)
photoperiod sensitivity		5B	wPt-5346	(Bogard et al., 2014)
photoperiod sensitivity		1A	gluA1.1.Y.1667	(Bogard et al., 2014)
photoperiod sensitivity		7B	wPt-7108	(Bogard et al., 2014)
Flowering (days)	QFlt.dms-2D	2D	Ppd-D1a; wsnp_CAP11_c3842_1829821	(Perez-Lara et al., 2016)
Flowering (days)	QFlt.dms-5A.1	5A	Kukri_c20258_143; JD_c3525_1503	(Perez-Lara et al., 2016)
Flowering (days)	QFlt.dms-5B	5B	BS00063785_51; IACX5818	(Perez-Lara et al., 2016)
Flowering (days)	QFlt.dms-6B.1	6B	Tdurum_contig11700_1247; wsnp_Ra_c2730_5190365	(Perez-Lara et al., 2016)
Flowering (days)	QFlt.dms-7A	7A	Excalibur_c16355_712; RAC875_c18446_521	(Perez-Lara et al., 2016)
Flowering (days)	QFlt.dms-2D	2D	Ppd-D1a; wsnp_CAP11_c3842_1829821	(Perez-Lara et al., 2016)
Flowering (days)	QFlt.dms-3B	3B	Excalibur_c45968_83; CAP12_rep_c7901_114	(Perez-Lara et al., 2016)
Flowering (days)	QFlt.dms-6B.2	6B	wsnp_Ex_c4124_7455225; Kukri_c49331_77	(Perez-Lara et al., 2016)
Flowering (days)	QFlt.dms-7A	7A	Tdurum_contig11613_329; wsnp_Ex_c30239_39179460	(Perez-Lara et al., 2016)
Flowering (DD)	QFlt.dms-2D	2D	Ppd-D1a; wsnp_CAP11_c3842_1829821	(Perez-Lara et al., 2016)
Flowering (DD)	QFlt.dms-3B	3B	Excalibur_c45968_83; CAP12_rep_c7901_114	(Perez-Lara et al., 2016)
Flowering (DD)	QFlt.dms-4A	4A	CAP12_rep_c4000_432; wsnp_Ex_c54453_57331510	(Perez-Lara et al., 2016)
Flowering (DD)	QFlt.dms-5A.2	5A	Tdurum_contig86202_175; wsnp_Ra_c10915_17838202	(Perez-Lara et al., 2016)
Flowering (DD)	QFlt.dms-6B.2	6B	wsnp_Ex_c4124_7455225; Kukri_c49331_77	(Perez-Lara et al., 2016)
Flowering (DD)	QFlt.dms-7A	7A	Tdurum_contig11613_329; wsnp_Ex_c30239_39179460	(Perez-Lara et al., 2016)
heading date	QHd.ubo-2A	2A	IWB70098–IWB52303	(Milner et al., 2015)
heading date	QHd.ubo-2B	2B	IWB4604–IWA3868	(Milner et al., 2015)
heading date	QHd.ubo-4B	4B	IWB6994–IWB2398	(Milner et al., 2015)
heading date	QHd.ubo-6A	6A	IWA1235	(Milner et al., 2015)
heading date	QHd.ubo-7A.1	7A.1	IWB54744	(Milner et al., 2015)
heading date	QHd.ubo-7A.2	7A.2	IWA8390–IWB72200	(Milner et al., 2015)
Heading time	QHt-7B	7B	UCW99	(Cao et al., 2016)
DTA(days from sowing to anthesis)	QTL18	4B	wsnp_Ex_c4148_7495656	(Shirdelmoghanloo et al., 2016)
DTA (days from sowing to anthesis)	QTL18	4B	wsnp_Ex_c4148_7495656	(Shirdelmoghanloo et al., 2016)
DTA (days from sowing to anthesis)	QTL29	7B	wsnp_Ex_c24376_33619527	(Shirdelmoghanloo et al., 2016)
DTA (days from sowing to anthesis)	QTL6	2B1	wsnp_Ra_c14112_22155451	(Shirdelmoghanloo et al., 2016)
DHE (days to heading)		1D-a	1D-barcode0062-1D-gdm0111	(Tahmasebi et al., 2017)
DHE (days to heading)		3B	3B-acc/ctg-5-3B6aac/cta-6	(Tahmasebi et al., 2017)
DHE (days to heading)		4A	4A-acg/cta-3-4A6aac/caa-6	(Tahmasebi et al., 2017)

DHE (days to heading)		4B	4B-wPt-5606-4B-cn123	(Tahmasebi et al., 2017)
DHE (days to heading)		7D-a	7D-aca/cag-11-7D-acc/ctc-7	(Tahmasebi et al., 2017)
DHE (days to heading)		7D-b	7D-acc/cat-10-7D-cfd0014	(Tahmasebi et al., 2017)
HT (heading time)		1B	tPt-0283-wPt-6229	(Yu et al., 2015)
HT (heading time)		1D	gpw7082-wPt-3738	(Yu et al., 2015)
HT (heading time)		2A	wPt-8826-wPt-1657	(Yu et al., 2015)
HT (heading time)		2D	wPt-7149-wPt-667843	(Yu et al., 2015)
HT (heading time)		4B	wPt-9625-wPt-8543	(Yu et al., 2015)
HT (heading time)		5D	wPt-732636-wPt-731391	(Yu et al., 2015)
HT (heading time)		7A	wPt-6959-wPt-7113	(Yu et al., 2015)
FT (flowering time)		1A	tPt-1755-wPt-732113	(Yu et al., 2015)
FT (flowering time)		1A	wPt-668306-wPt-7030	(Yu et al., 2015)
FT (flowering time)		2B	wPt-6199-wPt-2600	(Yu et al., 2015)
FT (flowering time)		3B	wPt-7504-wPt-744804	(Yu et al., 2015)
FT (flowering time)		3D	wPt-741816-wPt-732611	(Yu et al., 2015)
FT (flowering time)		5A	cfa2149b-gwm304	(Yu et al., 2015)
Flowering	QFlt.dms-5A.1	5A	wsnp_Ex_c2526_4715978-BobWhite_c14689_172	(Zou, Semagn, Iqbal, N'Diaye, et al., 2017)
Flowering	QFlt.dms-5A.2	5A	Kukri_c12384_430-wsnp_Ex_c22727_31934296	(Zou, Semagn, Iqbal, N'Diaye, et al., 2017)
Flowering	QFlt.dms-5A.3	5A	wsnp_Ex_c22727_31934296-wsnp_Ex_rep_c66689_65010988	(Zou, Semagn, Iqbal, N'Diaye, et al., 2017)
Flowering time	QFlt.dms-4A	4A	Excalibur_c82040_91wsnp_Ra_rep_c70233_67968353	(Zou, Semagn, Iqbal, Chen, et al., 2017)
Flowering time	QFlt.dms-4B	4B	wsnp_Ra_c1146_2307483 Rht-B1	(Zou, Semagn, Iqbal, Chen, et al., 2017)
Flowering time	QFlt.dms-4B	4B	wsnp_Ra_c1146_2307483 Rht-B1	(Zou, Semagn, Iqbal, Chen, et al., 2017)
Flowering time	QFlt.dms-5A	5A	Ra_c3966_2205Tdurum_contig10843_745	(Zou, Semagn, Iqbal, Chen, et al., 2017)
Flowering time	QFlt.dms-5A	5A	wsnp_Ex_rep_c101994_87256479Excalibur_c26671_282	(Zou, Semagn, Iqbal, Chen, et al., 2017)
Flowering time	QFlt.dms-5A	5A	Vrn-A1 Kukri_c12384_430	(Zou, Semagn, Iqbal, Chen, et al., 2017)
Flowering time	QFlt.dms-5A	5A	Vrn-A1 Kukri_c12384_430	(Zou, Semagn, Iqbal, Chen, et al., 2017)
Flowering time	QFlt.dms-5A	5A	Vrn-A1 Kukri_c12384_430	(Zou, Semagn, Iqbal, Chen, et al., 2017)
Flowering time	QFlt.dms-6B	6B	wsnp_Ex_c18632_27501906Tdurum_contig32579_121	(Zou, Semagn, Iqbal, Chen, et al., 2017)
Heading date	QSe.cau-2BS	2B	barc200-gem410.1	(Guo et al., 2017)

Heading date		1A/2B	wPt5374	(Gerard et al., 2017)
Heading date		1B	wPt1328	(Gerard et al., 2017)
Heading date		1B	wPt6240	(Gerard et al., 2017)
Heading date		2B	wPt0335	(Gerard et al., 2017)
Heading date		2B	wPt9736	(Gerard et al., 2017)
Heading date		3B	wPt9432	(Gerard et al., 2017)
Heading date		3B	wPt9510	(Gerard et al., 2017)
Heading date		3B	wPt3921	(Gerard et al., 2017)
Heading date		4B	wPt6209	(Gerard et al., 2017)
Heading date		5D	wPt1400	(Gerard et al., 2017)
Heading date		5D	wPt2856	(Gerard et al., 2017)
Heading date		6A	wPt7063	(Gerard et al., 2017)
Heading date		6A/6B	wPt0959	(Gerard et al., 2017)
Heading date		6B	wPt7954	(Gerard et al., 2017)
Heading date		6B	wPt1241	(Gerard et al., 2017)
Heading date		6B	wPt1541	(Gerard et al., 2017)
heading/flowering date among	QFlt.icg-4D	4D	Xwmc4555	(Pshenichnikova et al., 2015)
heading/flowering date among	QFlt.icg-7A	7A	TaFTA	(Pshenichnikova et al., 2015)

Приложение 3. Генетическая карта хромосомы 5В. Расстояния указаны в сМ.

Маркеры	Расстояние
Ku_c10387_272	0
BS00066144_51	0,43
RFL_Contig4979_965,[Excalibur_c6967_553],RFL_Contig4979_865	1,31
BS00009810_51,[wsnp_Ex_c2459_4591587],[wsnp_Ex_rep_c68504_67334656]	2,19
Excalibur_c74858_243	2,63
wsnp_JD_rep_c48937_33188230,[RAC875_c29907_115],[BS00022336_51]	4,43
BobWhite_rep_c50066_63,[wsnp_BF201102B-Ta_2_5]	5,31
RAC875_c8661_692	7,58
RAC875_rep_c116173_605,[Excalibur_c58520_78],[BS00022107_51],[wsnp_Ex_c8962_14947544]	8,46
IAAV2411,[Excalibur_c32422_152],[BS00023072_51],[BS00063769_51],[wsnp_Ex_c214_421541]	9,78
RFL_Contig5320_731,[IAAV3261]	10,67
Kukri_c2827_439,[Ex_c2571_987],[Kukri_c439_857],[Kukri_c51_98],[Tdurum_contig44130_228],[BS00065930_51],[Tdurum_contig12926_687],[Kukri_s113060_116],[wsnp_Ex_c1498_2868339],[wsnp_Ex_c1302_2489542],[wsnp_Ra_rep_c106477_90236168],[Kukri_c43113_136],[Kukri_rep_c117024_436],[wsnp_Ku_c1535_3032561],[wsnp_Ex_c2904_5355509],[wsnp_Ex_rep_c104986_89538820],[CAP7_c11288_109],[wsnp_Ex_c58012_59490259]	11,11
Jagger_c6508_51,[Ku_c4349_1791],[Kukri_c13224_551],[Kukri_c73901_100],[RAC875_c96137_101],[Tdurum_contig43677_338],[Tdurum_contig354_149]	11,54
wsnp_Ex_c39535_46808105,[Kukri_rep_c105119_190],[wsnp_Ex_c65091_63634826],[Kukri_c40734_179]	11,98
Kukri_c32583_540,[Tdurum_contig31845_322],[BS00065390_51],[BS00045446_51],[Kukri_c59166_143],[BS00110489_51],[wsnp_Ex_c53011_56395185],[wsnp_CAP8_c1594_914839],[JD_c7452_325],[Kukri_c36789_230],[Kukri_c39743_170],[TA004455-0314],[Ku_c69113_923],[Excalibur_rep_c68375_213],[TA008675-0589],[wsnp_Ex_c12909_20457407],[IAAV3825],[JG_c1889_344],[wsnp_Ex_c48257_53217539],[BS0002191_51],[Kukri_c34434_1037],[wsnp_JD_c10416_11077664],[Kukri_c23070_350]	12,86
wsnp_BE497820B-Ta_2_1,[BS00002208_51],[RFL_Contig3811_3709],[BS00092953_51],[RAC875_rep_c105322_99],[BS00049793_51],[IACX6007],[wsnp_BE443187B-Ta_2_1],[IAAV5873],[wsnp_Ex_rep_c66651_64963120],[wsnp_Ku_c20701_30355248],[Jagger_c505_141],[wsnp_Ku_c14332_22613741],[BS00048572_51],[Kukri_c47349_450]	14,18
Ex_c66350_301,[Excalibur_c8082_478],[BS00108020_51],[BS00070507_51],[BS00028183_51],[wsnp_Ex_c6548_11355524],[BS00064767_51],[Excalibur_c32630_104],[Excalibur_c49271_183],[Tdurum_contig42092_348],[IAAV5469]	15,53
IAAV7207	16,88
Tdurum_contig52447_814,[Ex_c1583_1138],[wsnp_Ex_rep_c68023_66768700],[wsnp_Ex_rep_c69631_68583202],[wsnp_Ex_rep_c66903_65319487],[GENE-3506_53],[IAAV4188],[BobWhite_c47103_205],[Ex_c1583_1688]	17,78
Kukri_c9520_288,[Excalibur_c54941_571],[Kukri_c40046_237],[TA005322-0586],[wsnp_Ex_c10674_17400603],[IAAV52],[RAC875_c9150_2945],[RFL_Contig697_1463],[BS00094480_51],[Excalibur_c25948_366]	18,21
TA005387-0575,[IACX2883],[wsnp_Ex_rep_c102070_87317290]	18,66

TA005272-0214,[BS00011102_51],[Kukri_c9073_1450],[Tdurum_contig10338_566],[wsnp_Ex_c19724_2872093_9],[Excalibur_c10444_2056],[Tdurum_contig68472_291],[Tdurum_contig10172_176],[Kukri_c46476_647],[Ku_c1083_375],[RAC875_c2437_1569],[wsnp_Ex_c13409_21124830],[Tdurum_contig68343_339],[Kukri_c45713_151],[Tdurum_contig68472_115],[BS00066289_51],[Tdurum_contig77275_259],[wsnp_Ra_c26091_35652620],[Excalibur_c16135_253],[wsnp_Ex_c19724_28721128]	19,10
CAP12_rep_c4520_207	19,99
Jagger_c3991_101	20,44
Excalibur_c9846_458,[BS00093122_51],[GENE-3437_148]	20,89
BobWhite_c11861_557,[GENE-3575_1073],[BS00098821_51]	21,78
BS00083511_51,[CAP7_c1155_57],[BobWhite_rep_c50822_462],[RAC875_c27959_117],[wsnp_CAP12_c303_168418],[BS00042014_51]	22,22
Ex_c24477_484,[TA002629-0202],[Kukri_c35480_647],[IAAV2002]	22,66
IAAV659,[RAC875_c18335_443],[RAC875_c42009_247]	23,10
BobWhite_rep_c62475_70,[Kukri_c34173_518],[RFL_Contig5739_641],[BobWhite_rep_c65835_277],[BobWhite_c6633_179],[BobWhite_c4773_85],[Excalibur_rep_c101527_180],[Kukri_c46932_155],[Kukri_c46932_125],[BobWhite_c6633_395],[IAAV1706],[IACX6009],[TA003609-0197],[Excalibur_c20260_137],[Kukri_c64573_443],[BobWhite_c16987_106],[RFL_Contig5739_1542]	24,00
Tdurum_contig12551_233,[wsnp_Ku_c2185_4218722]	24,44
Tdurum_contig4864_86,[wsnp_Ex_c3834_6971470]	24,89
TA001786-1535,[IAAV7226],[Excalibur_c17055_1451]	26,72
wsnp_Ku_c3102_5811860,[Ra_c10633_2155],[tp1b0027f13_1493],[Tdurum_contig25513_123]	28,08
Tdurum_contig11439_387,[Excalibur_c33675_201],[Excalibur_c23304_353],[BS00087043_51],[Kukri_c35352_483],[Tdurum_contig63997_587],[Excalibur_c56310_57],[RAC875_c36779_148],[BobWhite_c23903_443],[wsnp_Ku_c3294_6125586],[BS00099782_51],[Kukri_c94990_140],[RAC875_c32320_88],[Kukri_c30643_112],[IAAV2426],[BS00087696_51],[RAC875_c23289_303]	28,52
RAC875_c103988_92	28,95
BobWhite_c34759_227,[BS00109560_51]	30,29
Tdurum_contig12995_722,[Tdurum_contig12995_792],[BS00010311_51],[Tdurum_contig58669_273]	30,72
IAAV2296,[wsnp_Ex_c1343_2568829],[Excalibur_c874_1479]	32,06
BS00067744_51,[Tdurum_contig27797_654],[Kukri_c49101_731],[Tdurum_contig27797_1114]	32,94
Vrn-B1,[BS00011514_51],[wsnp_RFL_Contig2809_2587619]	33,39
IACX5702,[wsnp_Ra_c20970_30293078]	33,84
Excalibur_c5329_1335	35,18
GENE-2794_534,[Kukri_c10016_369],[Excalibur_c3165_730],[Kukri_c100408_598],[GENE-2689_215]	35,61
TA001138-1003,[BobWhite_c11154_279],[TA001138-0446]	36,49
RAC875_rep_c114200_428,[wsnp_Ex_c11265_18216936]	36,93
Tdurum_contig98569_290	37,81
BS00021735_51,[Tdurum_contig28353_1628],[Kukri_c4581_737],[wsnp_Ra_c47696_53184502],[Excalibur_c100531_251]	38,25
IACX5390,[BobWhite_rep_c50349_139]	38,68
Tdurum_contig13773_321	40,04
RAC875_c60758_585,[Kukri_c87104_125],[BS00049403_51],[RAC875_c1792_3457]	40,94

Tdurum_contig14404_319,[Excalibur_c82693_359],[Tdurum_contig70554_1006],[RAC875_rep_c108082_333],[Excalibur_c9868_1206],[RFL_Contig1265_515],[Tdurum_contig52688_476],[Tdurum_contig85945_281],[Jagger_c3819_70],[wsnp_Ex_c12152_19429932],[wsnp_Ex_c11131_18037020],[wsnp_Ex_c11131_18036595],[Excalibur_c9258_1222],[Kukri_rep_c70662_486],[RAC875_c11671_1921],[wsnp_Ku_rep_c70662_70289489]	41,39
Kukri_c10508_253,[Excalibur_c1830_620],[BobWhite_c22036_399],[Kukri_rep_c101622_604],[Kukri_c36018_985],[BS00098292_51],[Excalibur_c35561_309],[BS00110474_51],[Tdurum_contig50731_961],[TA003709-0269],[GENE-2970_274]	43,64
wsnp_Ku_c25613_35580381	44,08
BS00065029_51,[Tdurum_contig82473_67],[wsnp_Ex_c11070_17950604],[RAC875_c10819_636],[Tdurum_contig51422_127],[wsnp_RFL_Contig1548_762547]	44,52
Excalibur_c12395_467,[wsnp_Ku_rep_c102339_89347150],[Tdurum_contig2290_65],[Tdurum_contig24416_284],[BS00015015_51],[Kukri_c23743_112],[Kukri_c45951_367]	46,34
BS00064947_51	46,77
GENE-2848_248,[Tdurum_contig5017_993]	47,22
BS00100708_51,[BS00022991_51],[BS00025795_51]	47,66
Tdurum_contig97407_196	49,02
RFL_Contig4167_1164,[BobWhite_c11038_605],[tp1b0057d20_531]	50,85
BobWhite_c38408_71,[IACX7841],[Kukri_c4096_220],[Kukri_rep_c112425_506],[Tdurum_contig8171_1680],[BS00021868_51],[Kukri_c16006_1996],[BS00064272_51],[BS00084106_51],[BS00050057_51],[wsnp_Ku_c40084_48381107]	51,30
wsnp_Ra_c6374_11143280	51,74
BS00078784_51	53,09
Tdurum_contig44115_720,[Tdurum_contig92938_632],[BS00062972_51],[RAC875_c62400_639],[RAC875_c62400_924],[RAC875_c62400_840],[Kukri_c3576_1212],[BS00088733_51],[Excalibur_c17489_804]	53,53
BS00024814_51	53,97
BS00039874_51	54,40
Excalibur_c9563_1157	54,84
BobWhite_c2694_494	55,73
Excalibur_c17032_261,[IAAV8455],[Excalibur_c9969_98],[wsnp_JD_c8978_9893945],[Kukri_c27433_1819],[BobWhite_c6685_1922],[Excalibur_c37910_276],[wsnp_Ex_c7193_12354542],[RAC875_c19660_1530],[Excalibur_rep_c107626_110]	56,17
BobWhite_c33898_150,[Ku_c1970_1921],[RAC875_c38873_1118],[wsnp_Ku_c3151_5892200],[BS00018740_51],[CAP11_c7700_247],[wsnp_Ra_c38873_46699852],[BS00064423_51],[D_GDEEGVY01AU4CW_149]	56,61
BS00065864_51,[BobWhite_c26082_239]	57,48
Tdurum_contig12848_112	58,36
Kukri_c59657_805	60,61
Kukri_c1214_948,[wsnp_Ex_c3874_7036132],[RFL_Contig5616_1779],[Excalibur_c23452_401],[wsnp_Ex_c3175_5864335]	61,04
RFL_Contig4176_605	61,48
Excalibur_c2618_1723,[Excalibur_c2618_1412]	61,91
Excalibur_c23801_115,[RAC875_c82589_246],[BS00031339_51],[BobWhite_c10956_71],[TA001999-0466],[BobWhite_c24484_240]	62,79
BS00024829_51,[Kukri_c50720_397],[wsnp_Ex_c9362_15546626]	71,45
wsnp_Ku_c9967_16591591	76,19
D_GDS7LZN02F4FP5_176	80,00
BS00094333_51,[Excalibur_c86388_413],[Kukri_c637_517]	80,44

Приложение 4. Результаты Blast анализа последовательностей SNP, расположенных в области QTL.

Маркер	Позиция на карте (cM)	<i>Brachypodium</i>			<i>Hordeum_vulgare</i>			<i>Triticum_aestivum</i>			<i>Triticum_urartu</i>			<i>Oryza_sativa(Indica)</i>			<i>Aegilops-Taushii</i>		
		Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)	Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)	Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)	Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)	Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)	Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)
[RAC875_rep_c11723_4_313]	11,11	.	.	.	.	.	.	Traes_5BS_F1D5DF2F2	64	.	.	.	.	BGIOGA035115	17	Exocyst_Exoc1/SEC3_Sec3-PIP2_bind.	.	.	.
[Ex_c2571_987]	11,11	.	.	.	MLOC_11764	29	ARM-like_ARM-type_fold.Importin-beta_N.	.	.	.	TRIUR3_12739	89	ARM-like_ARM-type_fold.Importin-beta_N.	BGIOGA019672	28	.	F775_20547	97	ARM-like_ARM-type_fold.Importin-beta_N.
[Kukri_c439_857]	11,11	.	.	.	.	.	.	Traes_4AS_145927471.3	59	Kinase-like_dom.Leu-rich_rpt.NB-ARC.P-loop_NTPase.Prot_kinase_dom.Protein_kinase_ATP_BS.Ser/Thr_kinase_AS.	TRIUR3_15613	20	Agenet-like_dom.Agenet_dom_plant	BGIOGA023665	17	Haem_peroxidase.Haem_peroxidase_pln/fun/bac.Peroxidase_pln.Peroxidases_AS.	F775_25748	68	Kinase-like_dom.Leu-rich_rpt_4.NB-ARC.P-loop_NTPase.Prot_kinase_dom.Protein_kinase_ATP_BS.
[Kukri_c51_98]	11,11	BRADI4G02040	37	Znf_LSD1.	MLOC_64242.2	57	Znf_LSD1.	Traes_5BS_41798B1C5	57	Znf_LSD1.	TRIUR3_03600	57	Znf_LSD1.	BGIOGA035855	29	Znf_LSD1.	F775_09435	57	Znf_LSD1.
[Tdurum_contig44130_228]	11,11	.	.	.	.	.	.	.	.	.	TRIUR3_07389	38	F-box_dom.	BGIOGA016862	17	Peptidase_S8/S53_dom.Peptidase_S8_Asp-AS.Peptidase_S8_Ser-AS.Peptidase_S8_subtilisin-rel.Peptidase_S8A_DUF1034.Protease-assoc_domain.S8pro/inhibitor_I9.	.	.	.
[BS00065930_51]	11,11	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	BGIOGA008914	17	DUF1683_C.Foie-gras_1.TPR-like_helical_dom.	.	.	.
[Tdurum_contig12926_687]	11,11	BRADI4G41960	93	FAR1_DNA_bnd_dom.FHY3/FAR1.MULE_transposase_dom.Znf_PMZ.Znf_SWIM.	MLOC_62808	97	FAR1_DNA_bnd_dom.FHY3/FAR1.MULE_transposase_dom.Znf_PMZ.Znf_SWIM.	Traes_5BS_BCC406654.2	97	FAR1_DNA_bnd_dom.FHY3/FAR1.MULE_transposase_dom.Znf_PMZ.Znf_SWIM.	TRIUR3_25143	101	FAR1_DNA_bnd_dom.FHY3/FAR1.MULE_transposase_dom.Znf_PMZ.Znf_SWIM.	BGIOGA037035	72	FAR1_DNA_bnd_dom.FHY3/FAR1.MULE_transposase_dom.Znf_PMZ.Znf_SWIM.	.	.	.
[Kukri_s113060_116]	11,11	.	.	.	MLOC_62808	63	FAR1_DNA_bnd_dom.FHY3/FAR1.MULE_transposase_dom.Znf_PMZ.Znf_SWIM.	Traes_5AS_385093854	63	FAR1_DNA_bnd_dom.FHY3/FAR1.MULE_transposase_dom.Znf_PMZ.Znf_SWIM.	TRIUR3_25143	63	FAR1_DNA_bnd_dom.FHY3/FAR1.MULE_transposase_dom.Znf_PMZ.Znf_SWIM.	BGIOGA021316	16	CRC.Lin-54_fam.	.	.	.
[wsnp_Ex_c1498_2868339]	11,11	BRADI4G02040	28	Znf_LSD1.	MLOC_64242.2	79	Znf_LSD1.	Traes_5BS_41798B1C5	196	Znf_LSD1.	TRIUR3_03981	19	NB-ARC.P-loop_NTPase.	BGIOGA000921	20	WRKY_DNA-bd.	.	.	.
[wsnp_Ex_c1302_2489542]	11,11	BRADI4G41960	91	FAR1_DNA_bnd_dom.FHY3/FAR1.MULE_transposase_dom.Znf_PMZ.Znf_SWIM.	MLOC_62808.1	183	FAR1_DNA_bnd_dom.FHY3/FAR1.MULE_transposase_dom.Znf_PMZ.Znf_SWIM.	Traes_5BS_BCC406654	199	FAR1_DNA_bnd_dom.FHY3/FAR1.MULE_transposase_dom.Znf_PMZ.Znf_SWIM.	TRIUR3_25143	183	FAR1_DNA_bnd_dom.FHY3/FAR1.MULE_transposase_dom.Znf_PMZ.Znf_SWIM.	BGIOGA037035	54	FAR1_DNA_bnd_dom.FHY3/FAR1.MULE_transposase_dom.Znf_PMZ.Znf_SWIM.	.	.	.
[wsnp_Ra_rep_c106477_90236168]	11,11	BRADI4G01910	81	DnaJ_domain.DnaJ_domain_CS.	MLOC_67905.1	177	DnaJ_domain.DnaJ_domain_CS.	Traes_5BS_1FB7CF7ECE	201	DnaJ_domain.DnaJ_domain_CS.	TRIUR3_33727	189	DnaJ_domain.	BGIOGA035847	58	DnaJ_domain	F775_26470	189	DnaJ_domain.
[Kukri_c43113_136]	11,11	.	.	.	.	.	.	.	.	.	TRIUR3_31488	18	SI21/SI22/Pil1/Ge17_Znf_MIZ.	BGIOGA034480	16	bZIP.TGA_domain.	.	.	.
[Kukri_rep_c117024_436]	11,11	.	.	.	MLOC_67905	61	DnaJ_domain.DnaJ_domain_CS.	Traes_5BS_393F35840	97	.	TRIUR3_33727	97	DnaJ_domain.	BGIOGA035847	24	DnaJ_domain	F775_26470	101	DnaJ_domain.
[wsnp_Ku_c1535_3032561]	11,11	BRADI3G55640.1	44	F-box_dom.	MLOC_37369	37	F-box_dom.	Traes_GAL_3D0984D0E	76	.	TRIUR3_07389	89	F-box_dom.	BGIOGA005336	20	F-box_dom.	F775_17667	68	F-box_dom.

Маркер	Позиция на карте (cM)	Brachypodium			Hordeum_vulgare			Triticum_aestivum			Triticum_urartu			Oryza_sativa(Indica)			Aegilops-Taushii		
		Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)	Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)	Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)	Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)	Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)	Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)
[wsnp_Ex_c2904_5355509]	11,11	BRADI4G02130	98	AGC-kinase_C. Kinase-like_dom. Pkinase_C. Prot_kinase_dom. Protein_kinase_ATP_BS. Ser/Thr_dual-sp_kinase. Ser/Thr_kinase_AS.	MLOC_70297	136	AGC-kinase_C. Kinase-like_dom. Pkinase_C. Prot_kinase_dom. Protein_kinase_ATP_BS. Ser/Thr_dual-sp_kinase. Ser/Thr_kinase_AS.	Traes_5BS_3908F9193	154	AGC-kinase_C. Kinase-like_dom. Pkinase_C. Prot_kinase_dom. Protein_kinase_ATP_BS. Ser/Thr_dual-sp_kinase. Ser/Thr_kinase_AS.	TRIUR3_12941	132	AGC-kinase_C. Kinase-like_dom. Pkinase_C. Prot_kinase_dom. Protein_kinase_ATP_BS. SAUR_fam. Ser/Thr_dual-sp_kinase. Ser/Thr_kinase_AS.	BGIOSGA037254	61	AGC-kinase_C. Kinase-like_dom. Pkinase_C. Prot_kinase_dom. Protein_kinase_ATP_BS. SAUR_fam. Ser/Thr_dual-sp_kinase. Ser/Thr_kinase_AS.	F775_31451	140	AGC-kinase_C. Kinase-like_dom. Pkinase_C. Prot_kinase_dom. Protein_kinase_ATP_BS. SAUR_fam. Ser/Thr_dual-sp_kinase. Ser/Thr_kinase_AS.
[wsnp_Ex_rep_c104986_89538820]	11,11	BRADI4G02380	54	ATP-grasp. ATP_grasp_subdomain_1. ATP_grasp_subdomain_2. Biotin_BS. Biotin_carboxylation_dom. Biotin_COase_C. Biotin_lipoyl. CbamoylIP_synth_Isu-like_ATP-bd. Rudment_hybrid_motif. Single_hybrid_motif.	MLOC_12185	134	ATP-grasp. ATP_grasp_subdomain_2. Biotin_BS. Biotin_carboxylation_dom. Biotin_COase_C. Biotin_lipoyl. Rudment_hybrid_motif. Single_hybrid_motif.	Traes_5BS_9E62F6722	154	ATP-grasp. ATP_grasp_subdomain_1. ATP_grasp_subdomain_2. Biotin_BS. Biotin_carboxylation_dom. Biotin_COase_C. Biotin_lipoyl. CarbamoylIP_synth_Isu_N. CbamoylIP_synth_Isu-like_ATP-bd. PreATP-grasp_dom. Rudment_hybrid_motif. Single_hybrid_motif.	TRIUR3_14040	150	ATP-grasp. ATP_grasp_subdomain_1. ATP_grasp_subdomain_2. Biotin_BS. Biotin_carboxylation_dom. Biotin_COase_C. Biotin_lipoyl. CarbamoylIP_synth_Isu_N. CbamoylIP_synth_Isu-like_ATP-bd. PreATP-grasp_dom. Rudment_hybrid_motif. Single_hybrid_motif.	BGIOSGA037751	29	ATP-grasp. ATP_grasp_subdomain_1. ATP_grasp_subdomain_2. Biotin_BS. Biotin_carboxylation_dom. Biotin_COase_C. Biotin_lipoyl. CarbamoylIP_synth_Isu_N. CbamoylIP_synth_Isu-like_ATP-bd. PreATP-grasp_dom. Rudment_hybrid_motif. Single_hybrid_motif.	F775_07427	150	ATP-grasp. ATP_grasp_subdomain_1. ATP_grasp_subdomain_2. Biotin_BS. Biotin_carboxylation_dom. Biotin_COase_C. Biotin_lipoyl. CarbamoylIP_synth_Isu_N. CbamoylIP_synth_Isu-like_ATP-bd. PreATP-grasp_dom. Rudment_hybrid_motif. Single_hybrid_motif.
[CAP7_c11288_109]	11,11	.	.	.	MLOC_74778	43	.	Traes_5DS_DFDEDB7C0	41	Ribosomal_S21.	TRIUR3_32964	30	Ribosomal_S21.	BGIOSGA008524	18	Hypoxia_induced_domain.	.	.	.
[wsnp_Ex_c58012_59490259]	11,11	BRADI1G17710	62	ARM-like. ARM-type_fold. TATA-bd_TIP120.	MLOC_79380	113	ARM-like. ARM-type_fold.	Traes_5BS_7055E4028	125	ARM-like. ARM-type_fold.	TRIUR3_32251	129	ARM-like. ARM-type_fold. TATA-bd_TIP120.	BGIOSGA007066	58	ARM-like. ARM-type_fold. TATA-bd_TIP120.	F775_20388	121	ARM-like. ARM-type_fold. RT_dom. TATA-bd_TIP120.
Kukri_c2827_439	11,11	.	.	.	MLOC_62808	46	FAR1_DNA_bnd_dom. FHY3/FAR1. MULE_transposase_dom. Znf_PMZ. Znf_SWIM.	Traes_5DS_620A46565	85	FAR1_DNA_bnd_dom. FHY3/FAR1. MULE_transposase_dom. Znf_PMZ. Znf_SWIM.	.	.	.	BGIOSGA022057	16	.	.	.	
[Ku_c4349_1791]	11,54	.	.	.	.	.	.	Traes_5BS_86C1C9A9F	101	FAR1_DNA_bnd_dom. FHY3/FAR1. MULE_transposase_dom.	TRIUR3_06419	18	ARM-like. ARM-type_fold. DUF1981_Sec7_assoc. Sec7_alpha_orthog_Sec7_dom.	BGIOSGA032120	23	FAR1_DNA_bnd_dom. FHY3/FAR1. MULE_transposase_dom. Znf_CCHC. Znf_PMZ. Znf_SWIM.	.	.	.
[Kukri_c13224_551]	11,54	.	.	.	MLOC_689	77	PyrdxIP-dep_Trfase. PyrdxIP-dep_Trfase_major_sub1.	Traes_5BS_713978384	101	PyrdxIP-dep_Trfase. PyrdxIP-dep_Trfase_major_sub1.	TRIUR3_14608	61	PyrdxIP-dep_Trfase. PyrdxIP-dep_Trfase_major_sub1.	BGIOSGA037704	35	PyrdxIP-dep_Trfase. PyrdxIP-dep_Trfase_major_sub1.	F775_14733	65	PyrdxIP-dep_Trfase. PyrdxIP-dep_Trfase_major_sub1.
[Kukri_c73901_100]	11,54	BRADI4G02910	53	VPS13. VPSAP_dom.	.	.	.	Traes_5BS_4CE6F3D3B	97	.	TRIUR3_20700	89	RT_dom. VPSAP_dom.	BGIOSGA037714	33	Kinase-like_dom. PB1_dom. Prot_kinase_dom. Protein_kinase_ATP_BS. Ser-Thr_kinase_cat_dom. Ser/Thr_kinase_AS. VPSAP_dom.	F775_00816	85	VPS13. VPSAP_dom.
[RAC875_c96137_101]	11,54	.	.	.	.	.	.	Traes_5DL_030E64815	24	AT_hook_DNA-bd_motif. FAR1_DNA_bnd_dom. FHY3/FAR1. MULE_transposase	.	.	.	BGIOSGA001506	16	BAH_dom. C5_DNA_meth_AS. C5_MeTfrase. Chromo/shadow_domain. Chromo_domain.	EMT05906	24	.

Маркер	Позиция на карте (сМ)	<i>Brachypodium</i>			<i>Hordeum_vulgare</i>			<i>Triticum_aestivum</i>			<i>Triticum_urartu</i>			<i>Oryza_sativa(Indica)</i>			<i>Aegilops-Taushii</i>		
		Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)	Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)	Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)	Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)	Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)	Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)
								_dom. Znf_PMZ. Znf_SWIM.						Chromodomain-like. SAM-dependent_MTases					
[Tdurum_contig43677_338]	11,54	.		.	MLOC_6544_3	30	F-box_dom. FBD.	Traes_5BS_03B_8D2D81	101	FBD.	.	.	.	BGIOGA012_837	17	C1_3. Thioredoxin-like_fold. Thioredoxin_CS.	.	.	.
[Tdurum_contig354_149]	11,54	.		.	.		.	AT_hook_DNA-bd_motif. FAR1_DNA_bnd_dom. FHY3/FAR1. MULE_transposase_dom. Znf_PMZ. Znf_SWIM.	24		.	.	.	BGIOGA001_506	16	BAH_dom. C5_DNA_meth_AS. C5_MeTfrase. Chromo/shadow_dom. Chromo_domain. Chromodomain-like. SAM-dependent_MTases	EMT05906	24	.
Jagger_c6508_51	11,54	BRADI1G644_60.1	18	CXC_dom. Hist-Lys_N-MeTfrase_EZ.SET_dom.	MLOC_6651	59	Rhodanese-like_dom. Thiosulphate_STrase_CS.	Traes_5BS_ODE_D3EDB6	85	ConA-like_dom. GNK2_Kinase-like_dom. Prot_kinase_dom. Protein_kinase_AT_P_BS. Ser/Thr_kinase_AS.	.	.	.	BGIOGA020_869	19	.	.	.	.
[Kukri_rep_c105119_190]	11,98	BRADI4G431_30	41	2-isopropylmalate_synth_dimer. AIPM/Hcit_synth_CS. Aldolase_TIM. LeuA_bact_synth. PVR_CT.	MLOC_6980_4	71	AIPM/Hcit_synth_CS. Aldolase_TIM. PVR_CT.	Traes_5BL_C8A_A97724	91	2-isopropylmalate_synth_dimer. Aldolase_TIM. PVR_CT.	TRIUR3_310_33	87	2-isopropylmalate_synth_dimer. Aldolase_TIM. LeuA_bact_synth. PVR_CT.	BGIOGA036_963	42	2-isopropylmalate_synth_dimer. AIPM/Hcit_synth_CS. Aldolase_TIM. LeuA_bact_synth. PVR_CT.	EMT05050		2-isopropylmalate_synth_dimer. AIPM/Hcit_synth_CS. Aldolase_TIM. LeuA_bact_synth. PVR_CT.
[wsnp_Ex_c65091_63634826]	11,98	BRADI4G449_77	113	ARM-type_fold. Clathrin_H-chain/VPS_repeat. Clathrin_H-chain_link/propller. Clathrin_H-chain_linker. Clathrin_H-chain_linker_core. Clathrin_H-chain_propeller_N. Clathrin_H-chain_propeller_rpt. Clathrin_heavy_chain. TPR-like_helical_dom.	MLOC_5776_0	137	ARM-type_fold. Clathrin_H-chain/VPS_repeat. Clathrin_H-chain_link/propller. Clathrin_H-chain_linker. Clathrin_H-chain_linker_core. Clathrin_H-chain_propeller_N. Clathrin_H-chain_propeller_rpt. Clathrin_heavy_chain. TPR-like_helical_dom.	Traes_5BL_73E_7476C2	147	ARM-type_fold. Clathrin_H-chain/VPS_repeat. TPR-like_helical_dom.	TRIUR3_073_18	145	ARM-type_fold. Clathrin_H-chain/VPS_repeat. Clathrin_H-chain_linker. Clathrin_H-chain_linker_core. Clathrin_H-chain_propeller_N. Clathrin_H-chain_propeller_rpt. Clathrin_heavy_chain. TPR-like_helical_dom.	BGIOGA036_849	99	ARM-type_fold. Clathrin_H-chain/VPS_repeat. Clathrin_H-chain_link/propller. Clathrin_H-chain_linker. Clathrin_H-chain_linker_core. Clathrin_H-chain_propeller_N. Clathrin_H-chain_propeller_rpt. TPR-like_helical_dom.	EMT06756	137	ARM-type_fold. Clathrin_H-chain/VPS_repeat. Clathrin_H-chain_link/propller. Clathrin_H-chain_linker. Clathrin_H-chain_linker_core. Clathrin_H-chain_propeller_N. Clathrin_H-chain_propeller_rpt. Clathrin_heavy_chain. TPR-like_helical_dom.
[Kukri_c40734_179]	11,98	.		.	MLOC_4561	73	Macrophage_inhib_fac. Tautomerase/MIF_sf.	Traes_5BL_DB3_8D1FC7	97	Macrophage_inhib_fac. Tautomerase/MIF_sf.	TRIUR3_209_52	73	Nodulin-like.	BGIOGA011_720	16	APOBEC/CMP_deaminase_Zn-bd. CMP_dCMP_Zn-bd. Cytidine_deaminase-like. DHFR-like_dom. Eubact_RibD.	F775_30318	101	Macrophage_inhib_fac. Tautomerase/MIF_sf.
wsnp_Ex_c39535_46808105	11,98	.		.	MLOC_7918_6	18	ConA-like_dom. Kinase-like_dom. Leu-rich_rpt_4. LRR-contain_N2. Prot_kinase_dom. Protein_kinase_AT_P_BS. Ser/Thr_kinase_AS.	.	.	.	TRIUR3_261_63	21	DUF1618.	BGIOGA038_078	18	.	EMT23102	40	.
[Tdurum_contig31845_322]	12,86	.		.	.		.	.	.	.	.	.	.	.		.	.	.	.

Маркер	Позиция на карте (cM)	<i>Brachypodium</i>			<i>Hordeum_vulgare</i>			<i>Triticum_aestivum</i>			<i>Triticum_urartu</i>			<i>Oryza_sativa(Indica)</i>			<i>Aegilops-Taushii</i>		
		Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)	Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)	Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)	Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)	Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)	Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)
[BS00065390_51]	12,86	BRADI4G27977 BRADI3G34690	87.0 78.0	Carotenoid_Oase. Carotenoid_Oase.	MLOC_60975	89.0	Carotenoid_Oase.	Traes_5BL_370D667EC	99.0	Carotenoid_Oase.	TRIUR3_15178	98.0	Carotenoid_Oase.	BGIOSGA029997 BGIOSGA027068	81.0 79.0	Carotenoid_Oase. Carotenoid_Oase.	F775_10578	98.0	Carotenoid_Oase.
[BS00045446_51]	12,86	BRADI4G27880 BRADI4G27880	92.0 76.0	PP2C-like_dom. PP2C-like_dom.	.	.	.	Traes_5BL_1CE9B2BCD	99.0	PP2C-like_dom.	TRIUR3_23745	89.0	PP2C-like_dom. Protein_Pase_2C.	BGIOSGA030014	65.0	PP2C-like_dom.			
[Kukri_c59166_143]	12,86	.	.	.	.	.	.				.	.	.	BGIOSGA018206	65.0	Mit_carrier. Mitochondrial_sb/sol_carrier.	.	.	.
[BS00110489_51]	12,86	.	.	.	MLOC_558	86.0	TPX2_dom_C. TPX2_fam.	Traes_5BL_C452655D8	100.0	TPX2_dom_C.	TRIUR3_18861	89.0	TPX2_dom_C. TPX2_fam.	BGIOSGA027483	69.0	PSII_PsbR.	F775_26968	80.0	.
[wsnp_Ex_c53011_56395185]	12,86	BRADI2G53990	61.0	Znf_HIT.	MLOC_45508	84.0	PC-Esterase. PMR5_N_dom.	Traes_5BL_0A2A95985	99.0	PC-Esterase. PMR5_N_dom.	.	.	.	BGIOSGA019594	61.0	Clathrin_mu_C. Coatomer_dsu. Longin-like_dom.	F775_16314	80.0	PC-Esterase. PMR5_N_dom.
[wsnp_CAP8_c1594_914839]	12,86	BRADI5G23667	91.0	Amidase.	MLOC_17554	88.0	Disease-R_pln.	Traes_5BL_650AEB81E2 Traes_5BL_D6543DA63	99.0 97.0	Disease-R_pln. Disease-R_pln.	TRIUR3_10634	80.0	DUF616.	BGIOSGA032923	65.0	Epimerase_deHydtase_N_NAD(P)-bd_dom.	F775_01114	79.0	EG-like_dom. EGF-like_Ca-bd_dom. EGF-type_Asp/Asn_hydrxyl_site. EGF_Ca-bd_CS. Kinase-like_dom. Ser-Thr/Tyr_kinase_cat_dom. WAK_GUB.
[JD_c7452_325]	12,86	BRADI4G27490	75.0	Ferrochelatase	HEMH	91.0	Ferrochelatase.	Traes_5BL_FF9AA4B58	99.0	Ferrochelatase.	.	.	.	BGIOSGA032439	71.0	.	.	.	.
[Kukri_c36789_230]	12,86	BRADI1G14990 BRADI1G02575	86.0 78.0	. Cyt_P450.	.	.	.	.	.	.	TRIUR3_10298 TRIUR3_19187	100.0 94.0	Enolase. Enolase_C. Enolase_N. Rab-GTPase-TBC_dom.	MIR1122, MIR1122	89.0	.	.	.	.
[Kukri_c39743_170]	12,86	.	.	.	.	.	.	Traes_5BL_6264502EF	89.0	.	TRIUR3_30204	80.0	.	.	.	.	.	.	.
[TA004455-0314]	12,86	.	.	.	MLOC_53875	90.0	CRAL-bd_toc_tran. CRAL/TRIO_N_dom	Traes_5BL_39A8A94BA	98.0	CRAL-bd_toc_tran. CRAL/TRIO_N_dom	.	.	.	.	.	.	.	.	.
[Ku_c69113_923]	12,86	.	.	.	MLOC_18781	92.0	.	.	.	.	TRIUR3_13067	94.0	HARBI1_dom.	.	.	.	F775_27672	88.0	CHP02058. Tubulin/FtsZ_2-layer-sand-dom.
[Excalibur_rep_c68375_213]	12,86	BRADI3G56980	81.0	F-box_dom	MLOC_27745	86.0	.	Traes_5BL_7E9AD8270	99.0	.	TRIUR3_15758	89.0	F-box_dom.	BGIOSGA009330	83.0	F-box_dom.	F775_21149	89.0	F-box_dom.
		BRADI3G56990	80.0	.	MLOC_54953	86.0	G-protein_beta_WD-40_rep. WD40/YVTN_repeat-like_dom.				TRIUR3_09413	86.0	.	BGIOSGA009331	81.0	F-box_dom.	F775_15947	87.0	F-box_dom.
[TA008675-0589]	12,86	BRADI4G29260	88.0	Pentatricopeptide_repeat. TPR-like_helical_dom.	MLOC_38178	96.0	Pentatricopeptide_repeat. TPR-like_helical_dom.	Traes_5BL_C27E18BAB	100.0	HS1-bd.	TRIUR3_10296	98.0	Pentatricopeptide_repeat. TPR-like_helical_dom.	BGIOSGA029873	84.0	HS1-bd. Pentatricopeptide_repeat. TPR-like_helical_dom.	.	.	.
[wsnp_Ex_c12909_20457407]	12,86	BRADI4G27940	90.0	Myb-like_dom.	MLOC_55839	95.0	NAM-associated_C.	Traes_5BL_D6547B7B6	100.0	NAM-associated_C.	.	.	.	BGIOSGA030006 BGIOSGA030004	70.0 68.0	Myb-like_dom. SANT/Myb.	F775_07467 F775_07467	97.0 72.0	.
[IAAV3825]	12,86	BRADI3G36010 BRADI4G29440	88.0 86.0	NAT4-rel. Xant/urac/vitC. NAT4-rel. Xant/urac/vitC.	MLOC_10755	97.0	NAT4-rel. Xant/urac/vitC.	Traes_5BL_EBA1CD957	99.0	NAT4-rel. Xant/urac/vitC.	TRIUR3_24872 TRIUR3_20756	79.0 79.0	NAT4-rel. Xant/urac/vitC. NAT4-rel. Xant/urac/vitC.	BGIOSGA013804	89.0	EF-hand-dom_pair.	F775_06466 F775_07931	94.0 80.0	NAT4-rel. Xant/urac/vitC. NAT4-rel. Xant/urac/vitC.

Маркер	Позиция на карте (cM)	<i>Brachypodium</i>			<i>Hordeum_vulgare</i>			<i>Triticum_aestivum</i>			<i>Triticum_urartu</i>			<i>Oryza_sativa(Indica)</i>			<i>Aegilops_Taushii</i>		
		Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)	Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)	Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)	Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)	Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)	Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)
		BRADI1G02575, BRADI1G03485	75.0	Cyt_P450.															
[JG_c1889_344]	12,86	BRADI3G43130	69.0	Exonuclease.	MLOC_55837	97.0	Cysteamine_dioxygenase, RmlC-like_jellyroll.	Traes_5BL_FF192FC6A	100.0	Cysteamine_dioxygenase, RmlC-like_jellyroll.	TRIUR3_26414	98.0	Cysteamine_dioxygenase, RmlC-like_jellyroll, RmlC_Cupin.	BGIOSGA030009	77.0	Cysteamine_dioxygenase, RmlC-like_jellyroll.	F775_24414	72.0	.
[wsnp_Ex_c48257_53217539]	12,86	BRADI4G27850 BRADI2G60370	80.0 63.0	AP2/ERF_dom.	MLOC_55173	92.0	AP2/ERF_dom. DNA-bd_dom.	Traes_5BL_63E444E80	99.0	AP2/ERF_dom. DNA-bd_dom.	TRIUR3_17496	97.0	AP2/ERF_dom. DNA-bd_dom.	BGIOSGA030019 BGIOSGA009935	73.0 70.0	AP2/ERF_dom. DNA-bd_dom. Coatomer_asu. G-protein_beta_WD40_rep. WD40/YVTN_repeat-like_dom.	F775_06426	95.0	AP2/ERF_dom. DNA-bd_dom.
[BS00002191_51]	12,86	.	.	.	MLOC_44224	89.0	Hypoxia_induced_domain.	Traes_5BL_FCA06CE1F	100.0	Hypoxia_induced_domain.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
[Kukri_c34434_1037]	12,86	BRADI4G08527	75.0	P-loop_NTPase.	MLOC_11195	93.0	P-loop_NTPase. SMC6.	Traes_5BL_663F9F335	100.0	P-loop_NTPase.	TRIUR3_28851 TRIUR3_29185	96.0 81.0	P-loop_NTPase. SMC6. P-loop_NTPase. RecF/RecN/SMC_N. SMC6.	BGIOSGA030299	72.0	P-loop_NTPase. RecF/RecN/SMC_N. SMC6.	F775_27251 F775_03792	95.0 81.0	P-loop_NTPase. RecF/RecN/SMC_N. SMC6. P-loop_NTPase. SMC6.
[wsnp_ID_c10416_11077664]	12,86	BRADI4G27850	78.0	AP2/ERF_dom.	MLOC_55173	92.0	AP2/ERF_dom. DNA-bd_dom.	Traes_5BL_63E444E80	100.0	AP2/ERF_dom. DNA-bd_dom.	TRIUR3_17496	95.0	AP2/ERF_dom. DNA-bd_dom.	BGIOSGA030019 BGIOSGA027037	64.0 62.0	AP2/ERF_dom. DNA-bd_dom. DUF810. Munc13_1. Munc13_dom-2.	F775_06426	97.0	AP2/ERF_dom. DNA-bd_dom.
[Kukri_c23070_350]	12,86	.	.	.	.	.	.	Traes_5BL_78AA45906	99.0	MFS.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Kukri_c32583_540	12,86	BRADI4G08430 BRADI2G20600	71.0 64.0	Nucleotide-bd_a/b_plait.	MLOC_64479	90.0	ARM-like.	Traes_2BS_CDE410A7D	100.0	.	TRIUR3_19767	83.0	Dicer_dimerisation_dom. dsRNA-bd_dom. Helicase_C. P-loop_NTPase. PAZ_dom. RNase_III_dom.	.	.	.	F775_07968	85.0	DEAD/DEAH_box_helicase_dom. Dicer_dimerisation_dom. Helicase_ATP-bd. P-loop_NTPase. RNase_III_dom.
[BS00002208_51]	14,18	BRADI4G31410.1	36	Brix.	MLOC_67376	46	Brix.	Traes_5BL_A5F7D3709	101	Brix.	TRIUR3_26118	46	Brix.	BGIOSGA017752	38	Brix.	F775_28003	46	Brix.
[RFL_Contig3811_3709]	14,18	BRADI4G30200	40	DUF1666. Ribosomal_L34Ae.	MLOC_5225	85	DUF1666. Ribosomal_L34Ae.	Traes_5BL_B5664D3E9	97	DUF1666. Ribosomal_L34Ae.	TRIUR3_31696	93	DUF1666. Ribosomal_L34Ae.	BGIOSGA029767	23	.	F775_32195	93	DUF1666. Ribosomal_L34Ae.
[BS00092953_51]	14,18	.	.	.	MLOC_59071	33	DIOX_N_IPNS-like. Oxoglu/Fe-dep_dioxygenase.	Traes_5BL_10EF2471E	97	DIOX_N_IPNS-like. Isopenicillin_N_synthase. Oxoglu/Fe-dep_dioxygenase.	.	.	.	BGIOSGA001973	18	Syntaxin/epimorphin_CS. Syntaxin_N. t-SNARE. T_SNARE_dom.	.	.	.
[RAC875_rep_c105322_99]	14,18	.	.	.	MLOC_55771	89	DUF3675. Znf_RING-CH. Znf_RING/FYVE/PHD.	Traes_5BL_OA18D8C41	97	DUF3675. Znf_RING-CH. Znf_RING/FYVE/PHD.	TRIUR3_01898	85	DUF3675. Znf_RING-CH. Znf_RING/FYVE/PHD.	BGIOSGA030748	29	DUF3675. Znf_RING-CH. Znf_RING/FYVE/PHD.	F775_28965	85	DUF3675. Znf_RING-CH. Znf_RING/FYVE/PHD.
[BS00049793_51]	14,18	.	.	.	.	.	.	Traes_5BL_77D18C784	93	D-isomer_DH_NAD-bd. NAD(P)-bd_dom.	.	.	.	BGIOSGA027576	17	.	.	.	.
[IACX6007]	14,18	.	.	.	MLOC_10472	68	.	Traes_5BL_A595B1943	92	CAAX_protease.	TRIUR3_01900	80	CAAX_protease.	BGIOSGA028727	22	CAAX_protease.	.	.	.

Маркер	Позиция на карте (cM)	<i>Brachypodium</i>			<i>Hordeum_vulgare</i>			<i>Triticum_aestivum</i>			<i>Triticum_urartu</i>			<i>Oryza_sativa(Indica)</i>			<i>Aegilops-Taushii</i>		
		Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)	Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)	Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)	Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)	Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)	Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)
[wsnp_BE443187B_Ta_2_1]	14,18	.	.	.	MLOC_2218_4	53	MAP65_Ase1_PRC1	Traes_5BL_CE6_EA4264	121	MAP65_Ase1_PRC1	TRIUR3_182_04	85	MAP65_Ase1_PRC1	BGIOGA005_133	18	Hud_Sxl_RNA. Nucleotide-bd_a/b_plait. RRM_dom.	F775_07635	89	MAP65_Ase1_PRC1.
[IAAV5873]	14,18	BRADI4G31920	59	Annexin_pln. Annexin_repeat.	MLOC_5465_0	133	Annexin_repeat.	Traes_5BL_231_01F4FA	201	Annexin_pln. Annexin_repeat.	TRIUR3_040_12	169	Annexin_pln. Annexin_repeat.	BGIOGA029_650	28	Annexin_pln. Annexin_repeat.	F775_28110	173	Annexin_pln. Annexin_repeat.
[wsnp_Ex_rep_c66651_64963120]	14,18	BRADI4G30150	57	DUF3675. Znf_RING-CH. Znf_RING/FYVE/PHD.	MLOC_5577_1	68	DUF3675. Znf_RING-CH. Znf_RING/FYVE/PHD.	Traes_5BL_OA1_8D8C41	201	DUF3675. Znf_RING-CH. Znf_RING/FYVE/PHD.	TRIUR3_018_98	69	DUF3675. Znf_RING-CH. Znf_RING/FYVE/PHD.	BGIOGA030_748	29	DUF3675. Znf_RING-CH. Znf_RING/FYVE/PHD.	F775_28965	122	DUF3675. Znf_RING-CH. Znf_RING/FYVE/PHD.
[wsnp_Ku_c20701_30355248]	14,18	BRADI4G30070	116	FucosylTrfase_pln. GDP-Fuc_O-FucTrfase.	MLOC_4475_7	148	.	Traes_5BL_623_FB9090	180	FucosylTrfase_pln. GDP-Fuc_O-FucTrfase.	TRIUR3_231_10	172	FucosylTrfase_pln. GDP-Fuc_O-FucTrfase.	BGIOGA029_773	96	FucosylTrfase_pln. GDP-Fuc_O-FucTrfase. Skp1_comp_dimer.	EMT16884	172	Chloro_AB-bd_pln. Chloro_a-b-bd_dom. GDP-Fuc_O-FucTrfase.
[Jagger_c505_141]	14,18	.	.	.	MLOC_4624	81	.	Traes_5BL_D42_BB7AOC	101	.	.	.	.	BGIOGA035_008	18	Pyrv_Knase. Pyrv_PenolPyrv_Kinase-like_dom. Pyrv_Knase. like_insert_dom. Pyrv_Knase_a/b. Pyrv_Knase_brl. Pyrv_Knase_C. Pyrv_Knase_insert_dom.	.	.	.
[wsnp_Ku_c14332_22613741]	14,18	BRADI4G30270	78	Put_SAM_MeTrfase. SAM-dependent_MTases.	MLOC_5528_3	142	Put_SAM_MeTrfase. SAM-dependent_MTases.	Traes_5BL_E38_7CFB8A	151	Put_SAM_MeTrfase. SAM-dependent_MTases.	TRIUR3_164_29	146	Put_SAM_MeTrfase. SAM-dependent_MTases.	BGIOGA030_756	59	Put_SAM_MeTrfase. SAM-dependent_MTases.	F775_29617	151	Put_SAM_MeTrfase. SAM-dependent_MTases.
[BS00048572_51]	14,18	.	.	.	.	.	.	Traes_5DL_4FC_15BDAB	65	.	TRIUR3_035_07	18	Thaumatococin.	BGIOGA033_682	19	Glutathione-S-Trfase_C-like. Glutathione-S-Trfase_N. Thioredoxin-like fold.	F775_05255	65	.
[Kukri_c47349_450]	14,18	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	BGIOGA020_769	16	Epimerase_deHydrtase_N_NAD(P)-bd_dom.	.	.	.
wsnp_BE497820B_Ta_2_1	14,18	BRADI1G02575.1	47	Cyt_P450. Cyt_P450_CS. Cyt_P450_E_grp-I.	MLOC_5314_4	78	Pept_S26A_signal_pept_1. Pept_S26A_signal_pept_1_CS. Pept_S26A_signal_pept_1_Lys-AS. Pept_S26A_signal_pept_1_Ser-AS. Peptidase_S24/S26_b-rbn. Peptidase_S24_S26 A/B/C.	Traes_5BL_64C_8EB461	117	Pept_S26A_signal_pept_1. Pept_S26A_signal_pept_1_CS. Pept_S26A_signal_pept_1_Lys-AS. Pept_S26A_signal_pept_1_Ser-AS. Peptidase_S24/S26_b-rbn. Peptidase_S24_S26 A/B/C.	TRIUR3_040_13	95	Pept_S26A_signal_pept_1. Pept_S26A_signal_pept_1_Lys-AS. Pept_S26A_signal_pept_1_CS. Pept_S26A_signal_pept_1_Ser-AS. Peptidase_S24/S26_b-rbn. Peptidase_S24_S26 A/B/C.	BGIOGA029_649	44	Pept_S26A_signal_pept_1. Pept_S26A_signal_pept_1_CS. Pept_S26A_signal_pept_1_Lys-AS. Pept_S26A_signal_pept_1_Ser-AS. Peptidase_S24/S26_b-rbn. Peptidase_S24_S26 A/B/C. Peptidase_S26.	F775_06707	93	Pept_S26A_signal_pept_1. Pept_S26A_signal_pept_1_CS. Pept_S26A_signal_pept_1_Lys-AS. Pept_S26A_signal_pept_1_Ser-AS. Peptidase_S24/S26_b-rbn. Peptidase_S24_S26 A/B/C.

Маркер	Позиция на карте (cM)	<i>Brachypodium</i>			<i>Hordeum_vulgare</i>			<i>Triticum_aestivum</i>			<i>Triticum_urartu</i>			<i>Oryza_sativa(Indica)</i>			<i>Aegilops-Taushii</i>		
		Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)	Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)	Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)	Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)	Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)	Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)
		Peptidase_S24_S26 A/B/C.																	
[Excalibur_c8082_478]	15,53	BRADI4G33090	85.0	Cellulose_synth.	MLOC_65914	95.0	Cellulose_synth. Nucleotide-diphossugar_trans.	Traes_5BL_595463605	98.0	Cellulose_synth.	TRIUR3_12444	99.0	Cellulose_synth.	BGIOSGA029584	80.0	Cellulose_synth.	F775_05137	100.0	Cellulose_synth.
		BRADI4G33080	81.0	Cellulose_synth.	MLOC_52756	86.0	Cit_transpstr-like_dom.	Traes_5BL_5954636051	98.0	Cellulose_synth.							F775_17281	90.0	Cellulose_synth.
[BS00108020_51]	15,53	.	.	.	MLOC_66757	100.0	Kinase-like_dom. Ser/Thr_dual-sp_kinase.	Traes_5BL_768A02870	100.0	Kinase-like_dom. Ser/Thr_dual-sp_kinase.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
					MLOC_66757	95.0	Kinase-like_dom. Ser/Thr_dual-sp_kinase.												
[BS00070507_51]	15,53	BRADI4G40727	66.0	AAA+ ATPase. / Leu-rich_rpt.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
[BS00028183_51]	15,53	BRADI4G19570	90.0	ADF-H/Gelsolin-like_dom.	MLOC_63720	90.0	.	Traes_5BL_58851C6FB1	100.0	.	TRIUR3_20232	93.0	.	BGIOSGA000687	71.0	Bulb-type_lectin_dom. ConA-like_dom. EG-like_dom. Kinase-like_dom. PAN-2_domain. S-locus_recpt_kinase_C.	.	.	.
		BRADI4G32900	80.0	.															
		BRADI4G32900	79.0	.															
[wsnp_Ex_c6548_11355524]	15,53	BRADI4G33370	83.0	WRKY_DNA-bd.	MLOC_58019	87.0	WRKY_DNA-bd.	Traes_5BL_17A712C94	87.0	WRKY_DNA-bd.	TRIUR3_09462	94.0	WRKY_DNA-bd.	BGIOSGA029574	79.0	WRKY_DNA-bd.	F775_09872	93.0	WRKY_DNA-bd.
		BRADI4G30290	83.0	MFS_dom. Sugar/inositol_transpt.	MLOC_58019	87.0	WRKY_DNA-bd.	Traes_5BL_17A712C94	83.0	WRKY_DNA-bd.	TRIUR3_09462	93.0	WRKY_DNA-bd.						
		BRADI4G33370	74.0	WRKY_DNA-bd.				Traes_5BL_B98442666	79.0	.									
[BS00064767_51]	15,53	.	.	.	.	.	.	Traes_5BL_FAB985C54	98.0	Pentatricopeptide_repeat.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
[Excalibur_c32630_104]	15,53	BRADI4G32967	87.0	bHLH_dom	MLOC_51044	82.0	ARM-like. BEACH_dom. ConA-like_dom. WD40/VVTN_repeat-like_dom.	Traes_5BL_AAC9C7238	93.0	bHLH_dom.	.	.	.	BGIOSGA030958	87.0	bHLH_dom.	F775_23096	100.0	bHLH_dom. Pentatricopeptide_repeat. TPR-like_helical_dom.
		BRADI3G38970	81.0	bHLH_dom															
[Excalibur_c49271_183]	15,53	.	.	.	MLOC_91	94.0	Leu-rich_rpt. NB-ARC. P-loop_NTPase.	Traes_5BL_1C36F86791	98.0	PI3/4_kinase_cat_dom.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
[Tdurum_contig42092_348]	15,53	BRADI3G15120	69.0	.	.	.	.	.	.	.	TRIUR3_22556	73.0	His_deacetylse.	BGIOSGA023775	68.0	Chromo/shadow_dom. Helicase_ATP-bd. Homeodomain-like. P-loop_NTPase. SNF2_N.	F775_04394	72.0	His_deacetylse.
[IAAV5469]	15,53	BRADI4G32941	90.0	HATPase_C. Heat_shock_protein_90_CS. Ribosomal_S5_D2-tyr_fold.	MLOC_3272	95.0	HATPase_C. Heat_shock_protein_90_CS. Ribosomal_S5_D2-tyr_fold.	Traes_5BL_37ECD381E	97.0	HATPase_C. Hsp90_fam. Ribosomal_S5_D2-tyr_fold.	TRIUR3_31474	96.0	HATPase_C. Heat_shock_protein_90_CS. Hsp90_fam.	BGIOSGA029594	88.0	HATPase_C. Heat_shock_protein_90_CS. Ribosomal_S5_D2-tyr_fold.	F775_01522	96.0	F-box_dom. HATPase_C. Heat_shock_protein_90_CS.

Маркер	Позиция на карте (cM)	<i>Brachypodium</i>			<i>Hordeum_vulgare</i>			<i>Triticum_aestivum</i>			<i>Triticum_urartu</i>			<i>Oryza_sativa(Indica)</i>			<i>Aegilops-Taushii</i>		
		Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)	Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)	Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)	Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)	Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)	Перекрывающиеся гены	Score	Домены (InterPro)
		BRADI3G38897	85.0	HATPase_C_Hsp90_							Ribosomal_S5_D2- typ_fold.			BGIOSGA026764	85.0	HATPase_C_Heat_shock_protein_90_CS_Ribosomal_S5_D2- typ_fold.	Ribosomal_S5_D2- typ_fold.		
Ex_c66350_301	15,53	BRADI4G32960 BRADI3G38960	87.0 77.0	Cellulose_synth. PI3/4_kinase_cat_dom.	MLOC_57440 MLOC_55934	97.0 75.0	PI3/4_kinase_cat_dom. PI3/4_kinase_cat_dom. Ubiquitin-rel_dom.	Traes_5BL_1C36F86791	97.0	PI3/4_kinase_cat_dom.	TRIUR3_12912	75.0	PI3/4_kinase_cat_dom.	BGIOSGA029593	90.0	PI3/4_kinase_cat_dom. Ubiquitin-rel_dom.	F775_32640	97.0	PI3/4_kinase_cat_dom.

Приложение 5. Коэффициенты корреляции суточных паттернов экспрессии генов у нечувствительных к фотопериоду линий (Sonora, Ppd-m, ppd-w). Жирным шрифтом выделены значимые корреляции (P = 0.001).

[illegible]

Приложение 6. Коэффициенты корреляции суточных паттернов экспрессии генов у чувствительной к фотопериоду линии (ФЧЛ2). Жирным шрифтом выделены значимые корреляции (P = 0.001).

[illegible]