

УДК 575.164

ИЗУЧЕНИЕ МОРФОГЕНЕЗА СОЦВЕТИЯ И ВЫЯВЛЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ НАСЛЕДОВАНИЯ ПРИЗНАКА “МНОГОКОЛОСКОВОСТЬ” У МУТАНТНОЙ ЛИНИИ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ (*TRITICUM AESTIVUM* L.)

© 2014 г. О. Б. Добровольская*, Е. Д. Бадаева**, И. Г. Адонина*,
О. М. Попова*, А. А. Красников***, Л. И. Лайкова*

*Институт цитологии и генетики СО РАН

630090, Новосибирск, проспект академика Лаврентьева, 10,

**Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН

117971, Москва, ул. Губкина, 3,

***Центральный сибирский ботанический сад СО РАН

630090, Новосибирск, ул. Золотодолинская, 101

E-mail: oxanad@bionet.nsc.ru

Поступила в редакцию 06.02.2014 г.

Окончательный вариант получен 02.07.2014 г.

С помощью методов С-окрашивания и FISH охарактеризован кариотип индуцированного мутанта МС1611 мягкой пшеницы, у которого развиваются дополнительные колоски с уступом колосового стержня (признак “многоколосковость”). Обнаружено, что мутантный фенотип не связан с анеуплоидией и крупными хромосомными перестройками. Результаты генетического анализа показали, что многоколосковость линии обусловлена мутацией одного гена, обозначенного *bh-D.1*, на действие которого оказывает влияние генотипическая среда. Мутация вызывает аномалии морфогенеза соцветия, связанные с развитием эктопических колосковых меристем на месте флоральных меристем в базальной части колоска, что приводит к появлению дополнительных колосков в уступе колосового стержня. Мутантный фенотип предполагает, что ген *Bh-D* определяет судьбу латеральных меристем в колоске, которые у соцветий дикого типа развиваются как флоральные и дают начало органам цветка. У мутанта *bh-D.1* нарушено установление идентичности флоральных меристем. Охарактеризованный мутант может быть использован в дальнейших исследованиях по изучению молекулярно-генетических основ развития соцветия пшеницы.

Ключевые слова: *Triticum aestivum* L., развитие соцветия, колос, многоколосковость, мутанты, дифференциальное С-окрашивание, FISH.

DOI: 10.7868/S0475145014060032

ВВЕДЕНИЕ

Соцветие пшеницы представляет собой колос. Ось колоса состоит из члеников, на верхней части каждого из которых, в уступах колосового стержня, расположено по одному сидячему колоску (рис. 1а). Колосок – это редуцированная ветвь, содержащая цветки. Наличие колоска является характерной особенностью соцветия всех злаков, исключение составляют несколько рано дивергировавших вида (Malcomber et al., 2006). Количество колосков в уступе колосового стержня – одна из ключевых таксономических характеристик трибы Triticeae (Sakuma et al., 2011). У представителей рода *Triticum*, включая мягкую пшеницу, развивается по одному колоску в уступе, и появление дополнительных или сверхчисленных ко-

лосков (supernumerary spikelets, SS) считается отклонением от нормы. Признак генетически детерминирован (Pennell, Halloran, 1983; Klindworth et al., 1990; Dobrovolskaya et al., 2009), на его проявление оказывают влияние условия окружающей среды (Sharman 1944; Pennell and Halloran, 1983). В контроль признака вовлечены хромосомы второй гомеологической группы (Sears 1954; Klindworth et al., 1990; Peng et al., 1998; Лайкова и др., 2005; Yang et al., 2005). Картированы гены, детерминирующие формирование дополнительных/сверхчисленных колосков в уступах колосового стержня диплоидной (AA), тетраплоидной (BBAA) и гексаплоидной (мягкой) (BBAAADD) пшениц (Dobrovolskaya et al., 2009; Li et al., 2011; Haque et al., 2012; Amagai et al., 2014).

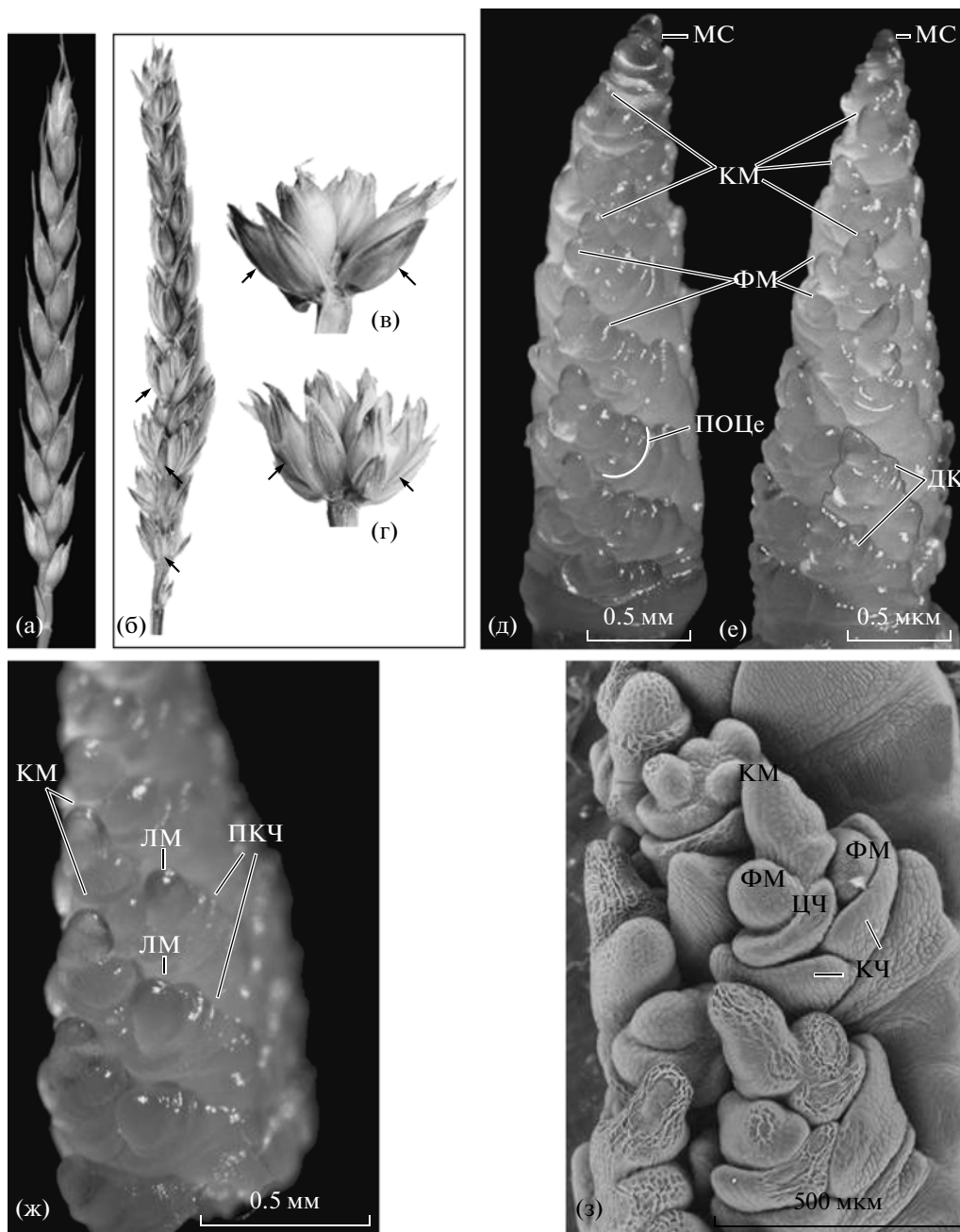


Рис. 1. Особенности строения соцветия мутантной линии пшеницы MS1611.

(а) Колос стандартного (дикого) типа мягкой пшеницы сорта Саратовская 29 (С29), и (б) колос с дополнительными колосками в уступах колосового стержня мутанта MS1611. Расположение дополнительных колосков в уступе колосового стержня, вид с (в) внутренней и (г) внешней сторон колосового стержня; дополнительные колоски обозначены стрелками. Микрофотографии развивающихся соцветий (д) С29 и (е, ж) мутанта MS1611. (з) Строение дополнительного колоска (сканирующая электронная микроскопия). МС – меристема соцветия, КМ – колосковая меристема, ФМ – флоральная меристема, ПОЦв – примордии органов цветка, ДК – дополнительные колоски, ЛМ – латеральная меристема, ПКЧ – примордии колосковых чешуй, КЧ – колосковая чешуя, ЦЧ – цветковая чешуя.

Изучение мутантов с измененной морфологией колоса позволяет идентифицировать и изучать гены, контролирующие развитие колоса. Генетическая регуляция развития соцветия злаков наиболее полно изучена у кукурузы благодаря наличию большого количества мутантов с различными

аномалиями в строении соцветия, и геном которого к настоящему времени полностью секвенирован (по Malcomber et al., 2006). Что касается представителей трибы Triticeae, пшеницы и близкородственных видов, гены, контролирующие процесс развития соцветия, коло-

са, особенно на стадии формирования колоска, в настоящее время изучены мало. В течение последнего десятилетия идентифицирован и охарактеризован ряд таких генов у мягкой пшеницы, например, гены с гомеозисной активностью *B:WPI* (*wheat PISTILLATA*), *WAP3* (*wheat APETALA3*) (Nana et al. 2004); AP1-подобный ген *WAP1* (*VRN1*) (Murai et al. 2003), *WSEP* (*wheat SEPALLATA*) (Shitsukawa et al., 2007), однако данные, имеющиеся на настоящий момент, недостаточны и разрозненны. Для выявления генов, вовлеченных в контроль развития соцветия, применяют два основных подхода: первый основан на использовании мутантных форм с измененной морфологией соцветия, второй предусматривает клонирование генов по гомологии с ранее изученными генами других видов, используя инструментарий сравнительной генетики и геномики. Использование серии генетически независимых мутантов по одному генетическому локусу позволяет более полно изучить особенности функциональной организации генов и определить роль отдельных структурных элементов (функциональных доменов, промотора и др.). В литературе имеется множество примеров использования серий мутантов, один из них — изучение структурно-функциональной организации гена *FRIZZY PANICLE*, одного из ключевых регуляторов развития соцветия риса (Komatsu et al., 2003).

Мутанты пшеницы с измененной морфологией соцветия, связанной с формированием дополнительных колосков в уступах, важны для изучения генетических механизмов, лежащих в основе архитектуры соцветия пшеницы, колоса. Дж. Мак Кей (Mac Key) еще в 1968 году показал, что большинство видимых мутаций у мягкой пшеницы вызывают хромосомные перестройки и анеуплоидия (Mac Key, 1968). Результаты экспериментов В.М. Мельника и Г.П. Пастухова по изучению цитогенетики морфологических мутаций у мягкой яровой пшеницы подтвердили выводы Дж. Мак Кея (Мельник, Пастухов, 1984). Анеуплоидия и хромосомные перестройки (делеции) были обнаружены у линий пшеницы с дополнительными колосками (Sears, 1954; Swaminathan et al., 1966; Kořner, Foltýn 1989; Muramatsu et al., 2009).

Дифференциальное С-окрашивание хромосом — метод, позволяющий с высокой степенью надежности идентифицировать каждую хромосому кариотипа злаков и выявлять хромосомные перестройки: транслокации, делеции, инверсии (Бадаева, 2000; Силкова и др., 2006; Badaeva et al., 2007). Сочетание этого подхода с FISH увеличивает информативность и служит для выявления изменений кариотипа (Дедкова и др., 2007; Зошук и др., 2007). В данной работе мутант мягкой пшеницы *T. aestivum* L. MC1611 с аномалиями в строении колоса, связанными с формированием дополнительных колосков в уступах колосового

стержня, охарактеризован с использованием методов генетики, современных методов анализа кариотипа, световой и электронной микроскопии.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Объектом исследования послужила мутантная линия MC1611, полученная В.М. Мельником (Алтайский научно-исследовательский институт сельского хозяйства Россельхозакадемии, Барнаул) при обработке семян мягкой яровой пшеницы сорта Саратовская 29 (С29) химическим мутагеном нитрозометилмочевиной (НММ). Линия характеризуется развитием дополнительных колосков в уступах колосового стержня (Рис. 1б–1г). По другим морфологическим и физиологическим признакам мутантная линия не отличается от исходного сорта. Признак стабильно наследуется. На проявление мутантного фенотипа оказывают влияние условия выращивания растений, так при выращивании в условиях теплицы в осенне-зимний период (октябрь—декабрь) выраженность мутантного признака уменьшалась, и дополнительные колоски развивались только у основания колоса. Для изучения особенностей наследования мутантного признака были получены следующие популяции: популяция F₂ от скрещивания мутанта MC1611 и мягкой пшеницы сорта Скала; две популяции BC₁: MC1611/S29//MC1611 и MC1611/S29//S29 от скрещивания MC1611 и С29. Признак учитывался как качественный: либо стандартный колос дикого типа, либо колос с дополнительными колосками в уступах колосового стержня. Соответствие фактического расщепления теоретически ожидаемому расщеплению оценивали по критерию χ^2 (Рокицкий, 1973).

Развивающиеся соцветия вычленили с использованием бинокулярного микроскопа Альтами PC0745 (“Альтами”, Санкт-Петербург, Россия) из растений, выращенных в условиях гидропонной теплицы. Особенности развития соцветия изучали при помощи стереомикроскопа Carl Zeiss Stereo Discovery V12 (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Германия) и сканирующего электронного микроскопа Hitachi TM-1000 (Hitachi Co. Ltd, Япония) при постоянном ускоряющем напряжении 15 kV и степени разрядки в камере для образца 30–50 Па. Растительный материал для сканирующей электронной микроскопии не подвергали предварительной обработке. Для получения и обработки изображений использовали цифровую камеру высокого разрешения AxioCam MRc-5 (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Германия) и программное обеспечение AxioVision 4.8, а также оригинальное программное обеспечение для Hitachi TM-1000.

С-дифференциальное окрашивание проводили по ранее опубликованной методике (Badaeva et al., 1994). Препараты анализировали при помощи микроскопа Leitz Wetzlar. Для получения

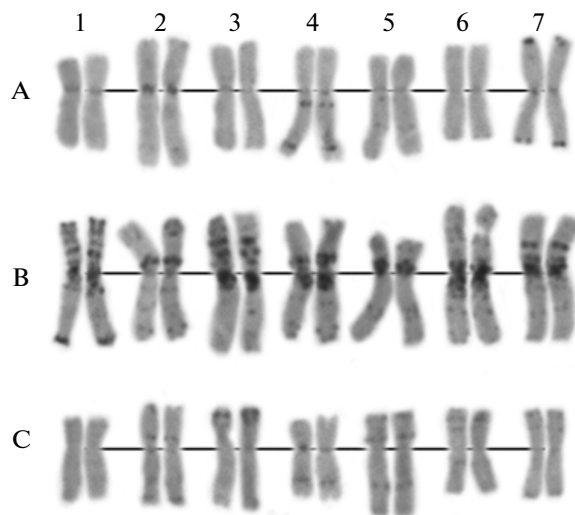


Рис. 2. Кариотип мутантной линии мягкой пшеницы MC1611 (С – дифференциальное окрашивание хромосом).

изображений использовали цифровую камеру CCD Leica DFC 280. Хромосомы классифицировали в соответствии со стандартной номенклатурой (Gill et al., 1991).

Флуоресцентную *in situ* гибридизацию (FISH) с зондами на основе клонированных повторенных последовательностей ДНК проводили в соответствии с ранее опубликованной методикой (Salina et al., 2006). Зонды метили биотином или дигоксигенином с помощью ПЦР со специфичными праймерами или с помощью реакции никотрансляции. Детекция биотинилированных зондов проводилась с помощью флуоресцеин авидина (Fluorescein Avidin D, Vector Laboratories). Сигнал гибридизации усиливался с применением флуоресцеин анти-авидина (Fluorescein Anti-Avidin D, Vector Laboratories). Дигоксигенин-меченые зонды выявляли с помощью антител к дигоксигенину, связанных с родамином (Anti-digoxigenin-rhodamine Fab fragments, Roche Applied Science). Препараты заключали в среду, замедляющую выцветание флуоресценции (Vectashield mounting medium, Vector Laboratories), содержащую 0.5 мкг/мл DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindol, Sigma) для окрашивания хромосом и анализировали с помощью микроскопа "Axioskop" 2 Plus (Zeiss). Изображение регистрировалось CCD-камерой VC-44 (PCO). Ранее было показано, что одновременная гибридизация двух проб ДНК (pSc119.2, pAs1) позволяет идентифицировать хромосомы геномов В и D мягкой пшеницы (Schneider et al., 2003). Данные пробы были использованы в нашей работе.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Кариотипирование хромосом мутантной линии MC1611, выполненное с использованием ме-

тода С-дифференциального окрашивания и гибридизации *in situ* с пробами pSc119.2 и pAs1, показало, что изучаемая линия имеет 42-хромосомный набор; хромосомные перестройки выявлены не были (рис. 2, 3а, 3б). В середине 50-х годов прошлого столетия Э. Сирс (Sears) описал появление колосьев с "редупликацией колосков" у растений-нуллисомиков по хромосомам 2А и 2D мягкой пшеницы (Sears, 1954). Позднее М. Мурамацу (Muramatsu) показал, что эффект нуллисомии может полностью компенсироваться увеличением числа гомеологичных хромосом, и колосья нули-тетрасомной линии Tetra-2A Nulli-2D ($2n = 42, 19'' + 1'''$) имеют дикий фенотип, а в уступах колосового стержня развивается по одному колоску (Muramatsu et al., 2009). Хромосомные перестройки, включая делеции и отсутствие целой хромосомы, были обнаружены и у других линий мягкой пшеницы с дополнительными колосками и разветвлением колосового стержня (Swaminathan et al., 1966; Košner, Foltýn, 1989). Кроме хромосомных перестроек причиной мутантного фенотипа, формирования множества колосков в уступах колосового стержня, у пшеницы могут быть и мутации в одном гене (Dobrovolskaya et al., 2009). Полученные нами данные показали, что мутантный фенотип линии MC1611 не связан с крупными хромосомными перестройками или анеуплоидией.

Для изучения особенностей наследования мутантного признака были проведены скрещивания MC1611 с исходным сортом С29: анализирующее скрещивание MC1611/С29//MC161 и скрещивание MC1611/С29//С29, а также скрещивание с мягкой пшеницей сорта Скала (колос дикого типа). Гибриды F₁ от скрещиваний MC1611 × С29 и MC1611 × Скала имели колос дикого типа. Колосья растений ВС₁ (140 растений) от скрещивания

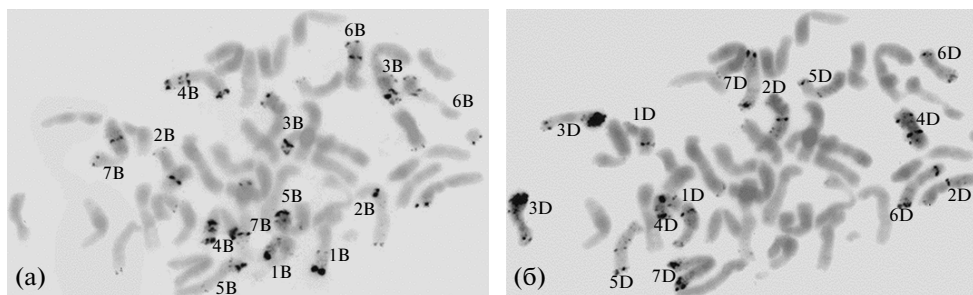


Рис. 3. FISH на метафазных хромосомах линии MC1611 с зондами (а) pSc119.2 и (б) pAs1.

MC1611/C29//C29 были дикого типа, а в популяции BC₁ (155 растений) от скрещивания MC1611/C29//MC1611 наблюдали расщепление: 77 растений дикого типа: 78 растений мутантного типа, соответствующее расщеплению 1 : 1 ($\chi^2 = 0.01$ при $P < 0.1$). Эти результаты вместе с данными FISH и С-окрашивания хромосом указывают на то, что признак “многоколосковость” у изучаемой линии обусловлен мутацией, возникшей в одном гене в результате НММ-мутагенеза. Л.И. Лайкова и соавторы (2005) провели моносомный анализ, скрещивая MC1611 с моносомными тестерными линиями сорта Саратовская 29, и показали, что в контроль изучаемого признака вовлечена хромосома 2D, следовательно, мутантный ген локализован в хромосоме 2D. В нашем исследовании расщепление в поколении F₂ от скрещивания MC1611 с сортом Скала (116 растений с колосьями дикого типа : 19 растений с колосьями мутантного типа) отклонялось от моногенного ($\chi^2 = 8.6$) и дигенного ($\chi^2 = 14.2$), однако было ближе к моногенному. Суммируя полученные данные, можно предположить, что на проявление мутации оказывает влияние генотипическая среда. Ген, детерминирующий мутантный фенотип линии MC1611, обозначен *bh-D.1* (*bh* – общепринятое обозначение для генов, контролирующих многоколосковость/ветвистость у пшеницы). Ранее в хромосоме 2DS был локализован ген *Mrs1*, мутации которого вызывают образование множества колосков в уступах колосового стержня (Dobrovolskaya et al., 2009). Линии, несущие мутацию *mrs1*, были выделены в потомстве мутанта RA1, полученного в результате химического мутагенеза (Martinek, Bednar, 2001). Исходя из сходства мутантного фенотипа и локализации, можно предположить, что *bh-D.1* и *mrs1* являются рецессивными аллелями одного генетического локуса, *Bh-D*, при этом *bh-D.1* вызывает менее выраженные изменения фенотипа и, таким образом, является более слабым аллелем по сравнению с *mrs1*.

Мутантная линия MC1611 и исходный сорт C29 различаются только количеством колосков в уступах колосового стержня, по другим морфоло-

гическим и физиологическим характеристикам они идентичны. Для изучения особенностей морфогенеза были выделены молодые соцветия MC1611 и C29 на различных стадиях развития и проведен сравнительный анализ их строения.

Соцветие пшеницы детерминировано, и меристема соцветия последовательно дает начало латеральным меристемам, которые развиваются в латеральные колоски, пока не сформируется терминальный колосок. Каждая латеральная меристема развивается в единственный латеральный колосок, состоящий из множества цветков. Латеральную меристему, дающую начало колоску называют колосковой меристемой (Bonnett, 1936). В наших исследованиях на ранних этапах развития соцветия при формировании колосковых меристем и появлении зачатков (примордиев) колосковых чешуй различий в развитии между MC1611 и C29 выявлено не было. Первые различия появлялись на ранней стадии дифференцировки флоральных меристем, при этом у мутантных соцветий вместо примордиев органов цветка, расположенных в базальной части колоска, наблюдали появление примордиев органов колоска – колосковых чешуй (рис. 1ж). В соцветии дикого типа колосковая меристема дает начало органам колоска и флоральной меристеме, которые появляются в следующей последовательности: первыми становятся различимыми примордии двух колосковых чешуй, затем инициируются флоральные меристемы и на их периферии формируются примордии двух цветковых чешуй, дальше происходит дифференцировка органов цветка (двух лодичек, пестика и трех тычинок) (рис. 1д). Колосок пшеницы недетерминирован и состоит из несколько цветков, которые развиваются акропетально. После закладки двух колосковых чешуй колосковая меристема последовательно дает начало флоральным меристемам, и в то время как в расположенных в базальной части колоска меристемах уже происходит дифференцировка органов цветка, верхние еще не дифференцированы (рис. 1д). У соцветий мутантной линии мы наблюдали развитие дополнительных латеральных меристем на месте флоральных меристем базаль-

ной части колоска, которые дальше развивались как эктопические колосковые меристемы и в результате формировались дополнительные колоски (рис. 1е, ж, з). Отличий в развитии и строении дополнительных колосков обнаружено не было (рис. 1з). Таким образом, мутация *bh-D.1* линии МС1611 вызывает нарушения морфогенеза соцветия, связанные с развитием эктопических колосковых меристем на месте флоральных меристем, что приводит к появлению дополнительных колосков. Мутантный фенотип предполагает, что ген *Bh-D* определяет судьбу латеральных меристем в колоске, которые у соцветий дикого типа развиваются как флоральные и дают начало органам цветка; и функция (одна из функций) гена *Bh-D* — генетический контроль установления идентичности флоральных меристем. Известно, что у риса и кукурузы эту функцию выполняют гены ко-ортологи *FRIZZY PANICLE (FZP)* и *branched silkless1 (bd1)* (Chuck et al., 2002; Komatsu et al., 2003). У мутантов риса *fzp* сверхчисленные латеральные меристемы формируются на периферии колосковой меристемы, и формирование цветковой меристемы замещается последовательными раундами ветвления. Мутантный фенотип предполагает, что ген *FZP* предотвращает развитие латеральных меристем в колоске и дает возможность установлению идентичности флоральной меристемы (Komatsu et al., 2003). Мутанты *bd1* имеют сходный фенотип: в женском соцветии развиваются сверхчисленные колоски, а в мужском соцветии развитие колосков замещается последовательными раундами ветвления (Chuck et al., 2002). Ко-ортологи *FZP/bd1* кодируют транскрипционные факторы семейства *APETALA2* (Chuck et al., 2002; Komatsu et al., 2003).

Таким образом, с применением цитогенетических подходов нами охарактеризована мутантная линия мягкой пшеницы МС1611 и обнаружено, что мутантный фенотип не связан с хромосомными перестройками и/или анеуплоидией, а детерминирован мутацией одного гена, *Bh-D*, на действие которого оказывает влияние генотипическая среда. Изучение морфологии развивающихся соцветий позволило определить, что мутация *bh-D.1* вызывает нарушения в развитии колоса, связанные с формированием латеральных меристем на месте флоральных меристем в базальной части колоска и, таким образом, нарушает переход к установлению идентичности флоральных меристем. Охарактеризованный нами мутант МС1611 и исходный сорт С29 представляют удобную модель для дальнейшего изучения структуры и функции генов, участвующих в контроле развития соцветия пшеницы.

Авторы благодарят В.М. Мельника за предоставление семян мутантной линии и В.С. Ковалю (ИЦиГ СО РАН, Новосибирск) за помощь в получении фотоизображений мутанта. Работа выпол-

нена в рамках проекта по фундаментальным научным исследованиям (тема № VI.53.1.5.) при поддержке гранта РФФИ (№ 12-04-00897-а).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бадаева Е.Д. Эволюция геномов пшениц и их дикорастущих сородичей (молекулярно-цитогенетическое исследование). Автореф. дис. доктора. биол. наук. Москва: МАКС Пресс, 2000. 48 с.
- Дедкова О.С., Бадаева Е.Д., Митрофанова О.П. и др. Разнообразие и происхождение европейской популяции *Triticum dicoccum* (Schrank) Schuebl. на основе хромосомного анализа // Генетика. 2007. Т. 43. № 11. С. 1517–1533.
- Зошук С.А., Бадаева Е.Д., Зошук Н.В. и др. Исследование внутривидовой дивергенции пшениц группы Timopheevi методом гибридизации *in situ* с семействами тандемных повторов SPELT1 и SPELT52 // Генетика. 2007. Т. 43 № 6. С. 771–781.
- Мельник В.М., Пастухов Г.П. Генетические исследования индуцированных мутантов яровой пшеницы. Химический мутагенез в повышении продуктивности сельскохозяйственных растений. М.: Наука, 1984. 270 с.
- Лайкова Л.И., Арбузова В.С., Попова О.М. и др. Изучение ветвистости колоса у мутантных линий мягкой пшеницы сорта Саратовская 29 // Актуальные задачи селекции и семеноводства сельскохозяйственных растений на современном этапе. Доклады и сообщения IX генетико-селекционной школы (5–9 апреля 2004 г.). Новосибирск, 2005. С. 388–393.
- Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика. Минск: Высшая школа, 1973. 318 с.
- Силкова О.Г., Добровольская О.Б., Дубовец Н.И. и др. Создание пшенично-ржаных замещенных линий с идентификацией хромосомного состава кариотипов методами С-бэндинга, GISH и SSR-маркеров // Генетика. 2006. Т. 42. № 6. С. 793–802.
- Amagai Y., Martinek P., Watanabe N. et al. Microsatellite mapping of genes for branched spike and soft glumes in *Triticum monococcum* L. // Genet. Resour. Crop Evol. 2014. DOI: 10.1007/s10722-013-0050-9.
- Badaeva E.D., Badaev N.S., Gill B.S. et al. Intraspecific karyotype divergence in *Triticum araraticum* (Poaceae) // Plant Syst. Evol. 1994. V. 192. P. 117–145.
- Badaeva E.D., Dedkova O.S., Pukhalskiy V.A. et al. Chromosomal rearrangements in wheat: their types and distribution // Genome. 2007. V. 50. P. 907–926.
- Bedbrook J.R., Jones J., O'Dell M. et al. A molecular description of telomeric heterochromatin in *Secale* species // Cell. 1980. V. 19. P. 545–560.
- Bonnett O.T. The development of the wheat spike // J. Agric. Res. 1936. V. 53 P. 445–451.
- Chuck G., Muszynski M., Kellogg E. et al. The control of spikelet meristem identity by the *branched silkless1* gene in maize // Science. 2002. V. 298. P. 1238–1241.
- Dobrovolskaya O., Martinek P., Voylov A.V. et al. (2009). Microsatellite mapping of genes that determine super-

- numery spikelets in wheat (*T. aestivum*) and rye (*S. cereale*) // *Theor. Appl. Genet.* V. 119. P. 867–874.
- Haque M. A., Martinek P., Kobayashi S. et al. Microsatellite mapping of genes for semi-dwarfism and branched spike in *Triticum durum* Desf. var. *ramosoobscurum* Jakubz. “Vetvistokoloskaya” // *Genet. Resour. Crop Evol.* 2012. V. 59. P. 831–837.
- Hama E., Takumi S., Ogihara Y., Murai K. Pistillody is caused by alterations to the class-B MADS-box gene expression pattern in alloplasmic wheats // *Planta.* 2004. V. 218. P. 712–20.
- Klindworth D.L., Williams N.D., Joppa L.R. Inheritance of supernumerary spikelets in a tetraploid wheat cross // *Genome.* 1990. V. 33. P. 509–514.
- Komatsu M., Chujo A., Nagato Y. et al. FRIZZY PANICLE is required to prevent the formation of axillary meristems and to establish oral meristem identity in rice spikelets // *Development* 2003. V. 130. P. 3841–3850.
- Košner J., Foltýn J. Chromozomální poměry pšenice obecné (*Triticum aestivum* L.) s větevnatým klasem. In: Sbor. ÚVTIZ, Genet. Šlecht. 1989. V. 25. № 1. P. 11–17.
- Li J., Wang Q., Wei H., Hu X. et al. SSR Mapping for locus conferring on the triple-spikelet trait of the Tibetan triple-spikelet wheat (*Triticum aestivum* L. conv. triple-tum) // *Triticeae Genomics. Genet.* 2011. V. 2, doi: 10.5376/tgg.2011.02.0001.
- Mac Key J. Mutagenesis in vulgare wheat // *Hereditas.* 1968. V. 53. P. 505–517.
- Malcomber S.T., Preston J.C., Reinheimer R., et al. Developmental gene evolution and the origin of grass inflorescence diversity. In *Developmental Genetics of the Flower*, 2006. D.E. Soltis, P.S. Soltis, and J. Leebens-Mack, Editors. *Advances in Botanical Research* V. 44. P. 423–479.
- Martinek P., Bednar J. Changes of spike morphology (multirow spike –MRS, long glumes –LG) in wheat (*Triticum aestivum* L.) and their importance for breeding. In the Proceedings of International Conference “Genetic Collections, isogenic and alloplasmic lines”. 2001. Novosibirsk, Russia, P. 192–194.
- Murai K., Miyamae M., Kato H. et al. WAP1, a wheat *APETALA1* homolog, plays a central role in the phase transition from vegetative to reproductive growth // *Plant Cell Physiol.* 2003. V. 44. P. 1255–65.
- Muramatsu M. A presumed genetic system determining the number of spikelets per rachis node in the tribe Triticeae // *Breed. Sci.* (2009) V. 59. P. 617–620.
- Peng Z.S., Yen C., Yang J.L. Chromosomal location of genes for supernumerary spikelet in bread wheat // *Euphytica.* 1998. V. 103. P. 109–114.
- Pennell A.L., Halloran G.M. Inheritance of supernumerary spikelets in wheat // *Euphytica.* 1983. V. 32. P. 767–776.
- Rayburn A.L., Gill B.S. Isolation of a D-genome specific repeated DNA sequence from *Aegilops squarrosa* // *Plant. Mol. Biol. Rep.* 1986. V. 4. P. 102–109.
- Sakuma S., Salomon B., Komatsuda T. The domestication syndrome genes responsible for the major changes in plant form in the Triticeae crops // *Plant Cell Physiol.* 2011. V. 52. P. 738–749.
- Salina E.A., Lim Y.K., Badaeva E.D. et al. Phylogenetic reconstruction of *Aegilops* section Sitopsis and the evolution of tandem repeats in the diploids and derived wheat polyploids // *Genome.* 2006. V. 49. P. 1023–1035.
- Sharman B.C. Branched head in wheat and wheat hybrids // *Nature.* 1944. V. 153. P. 497–498.
- Shitsukawa N., Tahira C., Kassai K. et al. Genetic and epigenetic alteration among three homoeologous genes of a class E MADS box gene in hexaploid wheat // *Plant Cell.* 2007. V. 19. P. 1723–37.
- Schneider A., Linc G., Molnar-Lang M. Fluorescence *in situ* hybridization polymorphism using two repetitive DNA clones in different cultivars of wheat // *Plant Breed.* 2003. V. 122. P. 396–400.
- Sears E.R. The aneuploids of common wheat. Columbia Mo., University of Missouri 1954. P. 3–58.
- Swaminathan M.S., Chopra V.L., Sastry G.R.K. Expression and stability of an induced mutation for ear branching in bread wheat // *Curr. Sci.* 1966. V. 35. P. 91–92.
- Yang W.-Y., Lu B.-R., Hu X.-R. et al. Inheritance of the triple-spikelet character in a Tibetan landrace of common wheat // *Genet. Resour. Crop. Ev.* 2005. V. 52. P. 847–851.

Investigation of Morphogenesis of Inflorescence and Determination of the Nature of Inheritance of “Supernumerary Spikelets” Trait of Bread Wheat (*Triticum aestivum* L.) Mutant Line

O. B. Dobrovolskaya^a, E. D. Badaeva^b, I. G. Adonina^a, O. M. Popova^a,
A. A. Krasnikov^c, and L. I. Laikova^a

^a Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, 630090, Russia

^b Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, 117971, Russia

^c Central Siberian Botanical Garden, Novosibirsk, 630090, Russia

e-mail: oxanad@bionet.nsc.ru

Received February 6, 2014; in final form, July 2, 2014

Abstract—Using C-banding and FISH methods, the karyotype of MC1611 induced mutant of bread wheat, which develop additional spikelets at a rachis node (trait “supernumerary spikelets”) was characterized. It was determined that the mutant phenotype is not associated with aneuploidy and major chromosomal rearrange-

ments. The results of genetic analysis showed that supernumerary spikelets of the line are caused by a mutation of the single *bh-D.1* gene, influenced by the genetic background. The mutation causes abnormalities of inflorescence morphogenesis associated with the development of ectopic spikelet meristems in place of floral meristems in the basal part of the spikelets, causing the appearance of additional spikes at a rachis node. The mutant phenotype suggests that the *Bh-D* gene determines the fate of the lateral meristem in ear, which develops as floral meristem and gives rise to floral organs in wild-type inflorescences. In the *Bh-D.1* mutant, the establishing identity is impaired. The characterized mutant can be used in further studies on molecular genetic basis of development of wheat inflorescence.

Keywords: *Triticum aestivum* L., the development of the inflorescence, spike, supernumerary spikelets, mutants, C-banding, FISH