

ОРЛОВСКАЯ О. А.[✉], ВАКУЛА С. И., ХОТЫЛЕВА Л. В., КИЛЬЧЕВСКИЙ А. В.

Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси,
Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27, e-mail: O.Orlovskaya@igc.by

✉ O.Orlovskaya@igc.by, +(375 17) 284-04-10

ОЦЕНКА ЭФФЕКТА ГАПЛОТИПОВ ГЕНА *NAM-A1* НА УРОВЕНЬ ПРОЯВЛЕНИЯ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ПРИЗНАКОВ И СОДЕРЖАНИЕ БЕЛКА В ЗЕРНЕ ПШЕНИЦЫ

Цель. Ген *NAM-A1* играет важную роль в регуляции метаболических процессов, ремобилизации питательных веществ из вегетативных органов растения пшеницы в зерно. Цель данной работы - генотипирование SNP полиморфизмов гена *NAM-A1* у интрогрессивных линий, полученных от скрещивания сортов яровой мягкой пшеницы с видами рода *Triticum*, а также оценка эффекта влияния гаплотипов *NAM-A1* на количественные признаки и содержание белка в зерне исследованных генотипов. **Методы.** Идентификация полиморфизмов гена *NAM-A1* проводилась с использованием разработанных нами TaqMan маркеров в режиме Real-time PCR. Для статистической обработки данных применяли программы MS Excel 2007, Statistica 10.0. **Результаты.** У изученных сородичей *T. aestivum* чаще всего встречался гаплотип *NAM-A1c*, у сортов *T. aestivum* L. - *NAM-A1d*, у интрогрессивных линий пшеницы - смешанные гаплотипы гена *NAM-A1*. Выявлены статистически достоверные ассоциации гаплотипов гена *NAM-A1* с продуктивной кустистостью растений, длиной главного колоса, числом колосков в главном колосе и массой 1000 зерен. **Выводы.** Значимый эффект гаплотипов *NAM-A1* установлен для признаков «продуктивная кустистость» и «масса 1000 зерен». Наибольшее значение по массе 1000 зерен показано для растений с гаплотипом *NAM-A1d*.

Ключевые слова: *T. aestivum* L., виды рода *Triticum*, *NAM-A1*, SNP, количественные признаки.

Создание высокоурожайных и высококачественных сортов является приоритетной задачей для современной селекции мягкой пшеницы (*T. aestivum* L.). Известно, что у пшеницы гены No Apical Meristem (*NAM*) кодируют NAC-факторы транскрипции, которые участвуют в регуляции различных программ развития, контроле защитных реакций на биотические и абиотические стрессоры, играют важную роль в

процессе старения растений [1–4]. В геноме *T. aestivum* L. выявлены две группы *NAM* генов: *NAM-1*, локализованные на хромосомах 6A, 6B, 6D; гены *NAM-2* - на хромосомах 2A, 2B и 2D [5]. Установлено, что образцы пшеницы, содержащие функциональный аллель гена *NAM-B1*, накапливают больше белка в результате ремобилизации питательных веществ из вегетативных органов растения в зерно в процессе его налива [6]. Функциональный аллель *NAM-B1* отсутствует у большинства современных сортов пшеницы, но часто встречается у сородичей *T. aestivum* L. (*T. dicoccoides*, *T. dicoccum*, *T. spelta*, *T. durum*) [7, 8]. Проведенные в мире исследования показали, что наряду с геном *NAM-B1* важную роль в регуляции метаболических процессов играет также ген *NAM-A1* [9]. В результате изучения аллельного разнообразия *NAM-A1* в коллекциях сортов мягкой пшеницы были выявлены 2 функциональные одонуклеотидные замены (SNP), изменяющие структуру белка: C/T - в NAC домене гена (экзон 2, 6AS:4397602_16233); A/del - в конце кодирующей последовательности (экзон 3, 6AS:4397602_17020) [10, 11]. Цель данного исследования - генотипирование SNP полиморфизмов гена *NAM-A1* у интрогрессивных линий пшеницы, полученных от скрещивания сортов яровой мягкой пшеницы с видами рода *Triticum*, а также оценка эффекта влияния гаплотипов *NAM-A1* на количественные признаки и содержание белка в зерне исследованных генотипов.

Материалы и методы

В работе использовали 6 сортов мягкой пшеницы *T. aestivum* (Рассвет, Саратовская 29, Фестивальная, Chinese Spring, Белорусская 80, Pitic S62), 7 образцов видов рода *Triticum* (*T. dicoccum* K45926, *T. dicoccoides*, *T. dicoccoides* K5199, *T. durum*, *T. timopheevi*, *T. spelta* K1731, *T. kiharae*), а также 34 линии, полученные на их основе в Институте генетики и цитологии НАН Беларуси.

© ОРЛОВСКАЯ О. А., ВАКУЛА С. И., ХОТЫЛЕВА Л. В., КИЛЬЧЕВСКИЙ А. В.

На основании нуклеотидной последовательности гена *NAM-A1* нами разработаны варианты маркерных систем TaqMan к двум функциональным SNP. Каждый набор включал пару немеченых праймеров для ПЦР, два деградируемых TaqMan® зонда с меткой-красителем FAM/Hex на 5' конце и нефлуоресцентным гасителем (NFQ) на 3' конце. Оптимизированные пары праймеров для ПЦР и зондов подбирали с использованием инструмента «RealTime qPCR» компании IDT (режим доступа <https://eu.idtdna.com/scitools/Applications/RealTimePCR/>) (табл. 1). Праймеры синтезированы компанией «Праймтех» (Беларусь).

Для каждой пары праймеров использовали две реакции «НТС» (отрицательный контроль без матрицы). Необходимый объем компонентов рассчитывали, исходя из числа образцов, включая контрольные пробы. Реакционная смесь для постановки TaqMan – RT PCR объемом 25 мкл включала: 12,5 мкл 2X премикс Quick-Load 2X Master Mix, по 0,3 мкМ прямого и обратного праймеров, по 0,2 мкМ зонда 1 и зонда 2, 60 нг ДНК. Аллельную дискриминацию проводили в режиме Real-time PCR на приборе CFX96 (Bio-Rad Laboratories, США) согласно оптимизированному протоколу двухшаговой RT-PCR (табл. 2).

Полученные данные обрабатывали с использованием программного обеспечения CFX Maestro™ Software (Bio-Rad Laboratories, США).

Полевые испытания проводили в 2017 и 2018 годах на экспериментальных полях Инсти-

тута генетики и цитологии НАН Беларуси (г. Минск, РБ). У интрогрессивных линий пшеницы и их родительских форм учитывали следующие количественные признаки: высота растения, количество продуктивных побегов на растение, длина главного колоса, число колосков и зерен главного колоса, масса зерна с колоса и с растения, масса 1000 зерен. Содержание белка в зерне пшеницы (ГОСТ 10846-91) определяли в Центральной республиканской лаборатории ГУ «Государственная инспекция по испытанию и охране сортов растений» в 2017 и 2018 годах (г. Минск, РБ).

Для статистической обработки данных использовали программы MS Excel 2007 (описательная статистика), Statistica 10.0 (корреляционный, дисперсионный методы анализа).

Результаты и обсуждение

Результаты генотипирования SNP полиморфизмов гена *NAM-A1* у интрогрессивных линий мягкой пшеницы и родительских форм на основе TaqMan RT-PCR представлены в таблице 3.

Среди родительских форм пшеницы наиболее часто встречались образцы с гаплотипами *NAM-A1c* и *NAM-A1d*. Следует отметить, что сорта мягкой пшеницы имели, как правило, гаплотип *NAM-A1d* (табл. 3), что согласуется с данными литературы. Так, Cormier et al. [10] в своих исследованиях выявили, что для большинства современных европейских сортов пшеницы характерен именно гаплотип *NAM-A1d*.

Таблица 1. Праймеры для генотипирования SNP полиморфизмов гена *NAM-A1* с использованием технологии TaqMan

Название	Последовательность олигонуклеотида, 5' → 3'	5' метка	3' метка
1191-F	GGACGTACCATCAACACCAT		
1191-R	CAGTTCACGCCGGATACTT		
1191-A	TCTGGTTTCCAGCATCCCGTCC	FAM	BHQ-1
1191-Del	ATGCGGAAACCAGAGGTGGC	HEX	BHQ-1
512-F	GCCCAAGGGCCTCAA		
512-R	TGCTAGCTATACCGTGCGAT		
512-C	CGCGTCCGGTGAGGCGGTA	FAM	BHQ-1
512-T	GTCCAGACACGTCGGTGAG	HEX	BHQ-1

Таблица 2. Температурный профиль Real-time PCR (два шага)

	Температура, °C	Время	Кол-во циклов
Начальная денатурация	95	15 мин	1
Денатурация	95	15 сек	40
Отжиг/элонгация	58	1 мин	

Таблица 3. Частоты встречаемости гаплотипов гена *NAM-A1* у сортов *T. aestivum*, видов рода *Triticum* и полученных на их основе интрогрессивных линий

Гаплотип	SNP1	SNP2	Частота встречаемости гаплотипов <i>NAM-A1</i> , % (шт.)		
			родительские формы		интрогрессивные линии пшеницы
			сорта <i>T. aestivum</i>	виды рода <i>Triticum</i>	
<i>NAM-A1a</i>	C	A	0	14,29 (1)	0
<i>NAM-A1b</i>	C	Del	0	0	0
<i>NAM-A1c</i>	T	A	33,33 (2)	57,13 (4)	26,47 (9)
<i>NAM-A1d</i>	T	Del	66,67 (4)	14,29 (1)	32,35 (11)
<i>NAM-A1d/a</i>	T;C	Del;A	0	0	5,88 (2)
<i>NAM-A1d/c</i>	T;T	Del;A	0	0	35,30 (12)
Не определено			0	14,29 (1)	0

Изученные нами виды рода *Triticum* чаще имели гаплотип *NAM-A1c* (*T. dicoccum* K45926, *T. dicoccoides*, *T. timopheevi*, *T. spelta* K1731), а гаплотип *NAM-A1d* выявлен для *T. kiharae*. Гаплотип *NAM-A1a* нами обнаружен только для образца *T. durum*. По сведениям французских ученых, наибольшее распространение он получил среди образцов яровой мягкой пшеницы из Непала, Китая и Японии. Среди современных элитных европейских сортов пшеницы гаплотип *NAM-A1a* встречается не часто [10]. Образцов пшеницы с гаплотипом *NAM-A1b* у исследованных нами генотипов не выявлено. В работах зарубежных ученых приводятся данные о низкой частоте встречаемости этого гаплотипа [10, 11]. Например, в коллекции из 795 образцов мировой коллекции пшениц был обнаружен только один стародавний образец из Грузии с *NAM-A1b*. Существует предположение, что этот гаплотип появился недавно в результате рекомбинации между *NAM-A1a* и *NAM-A1d* [10].

У изученных интрогрессивных линий пшеницы часто встречались смешанные гаплотипы *NAM-A1d/c* (35,30 %). Гаплотип *NAM-A1d* унаследовали 32,35 % линий, *NAM-A1c* – 26,47% (табл. 3). Среди линий, созданных с участием *T. dicoccoides*, *T. dicoccum* K45926, *T. spelta* K1731, большинство имели гаплотип *NAM-A1c*. Линии на основе *T. durum* и *T. kiharae* чаще всего несли *NAM-A1d*. Например, из 7 линий с генетическим материалом *T. kiharae* гаплотип *NAM-A1c* выявлен только для линии 31 РассветЧТ. *kiharae*, который она унаследовала от родительского сорта пшеницы. Линии, созданные с участием *T. durum*, как правило, имели ген *NAM-A1* исходного сорта пшеницы; только для двух линий обнаружен смешанный гаплотип *NAM-A1d/a*.

Результаты генотипирования интрогрессивных линий мягкой пшеницы и родительских форм по гену *NAM-A1* сопоставлены с результатами полевых испытаний и данными анализа содержания белка в зерне 2017–2018 гг. Выявлены относительно слабые связи между вариантами гаплотипов *NAM-A1* и средними значениями количественных признаков (коэффициент ранговой корреляции Спирмена, как правило, не превышал 0,4). Статистически достоверные ассоциации установлены между вариантами *NAM-A1* и продуктивной кустистостью растений ($r_s = -0,61$ и $-0,40$), длиной главного колоса ($r_s = 0,33$ и $0,37$), числом колосков в главном колосе ($r_s = -0,34$ и $-0,33$), массой 1000 зерен ($r_s = 0,36$ и $0,43$) в 2017 г. и 2018 г. соответственно.

Для оценки эффекта гаплотипа гена *NAM-A1* на уровень проявления количественных признаков в условиях 2017 и 2018 гг. был проведен однофакторный дисперсионный анализ (табл. 4).

В условиях 2017 г. эффект гаплотипа *NAM-A1* значим для признаков «высота растения», «продуктивная кустистость», «масса зерен растения», «масса 1000 зерен». В 2018 г. прослежена зависимость между вариантами гена *NAM-A1* и продуктивной кустистостью растения, массой 1000 зерен. Статистически значимой связи между аллельным состоянием гена *NAM-A1* и признаками продуктивности колоса, содержанием белка в зерне не выявлено в оба года исследования (табл. 4).

Для детального анализа связей между анализируемыми признаками были построены двухходовые таблицы описательной статистики (табл. 5). Данные таблицы 5 показывают отсутствие явного эффекта влияния *NAM-A1* на большинство изученных признаков пшеницы.

Таблица 4. Однофакторный дисперсионный анализ количественных признаков образцов пшеницы с различными гаплотипами гена *NAM-A1*

Признак	Год	Эффект гаплотипа			Ошибка			F	p
		SS	df	MS	SS	df	MS		
Высота растения, см	2017	465,56	5,00	93,11	1120,93	33,00	33,97	2,74	0,04
	2018	426,25	6,00	71,04	2222,38	32,00	69,45	1,02	0,43
Продуктивная кустистость, шт	2017	3,64	5,00	0,73	3,85	33,00	0,12	6,25	0,001
	2018	5,50	6,00	0,92	9,16	32,00	0,29	3,20	0,01
Длина колоса, см	2017	7,35	5,00	1,47	55,36	33,00	1,68	0,88	0,51
	2018	15,28	6,00	2,55	67,08	32,00	2,10	1,21	0,32
Число колосков в колосе, шт	2017	17,39	5,00	3,48	90,21	33,00	2,73	1,27	0,30
	2018	32,24	6,00	5,37	93,08	32,00	2,91	1,85	0,12
Число зерен в колосе, шт	2017	393,42	5,00	78,68	1751,94	33,00	53,09	1,48	0,22
	2018	235,53	6,00	39,26	1755,30	32,00	54,85	0,72	0,64
Масса зерен с колоса, г	2017	0,82	5,00	0,16	3,29	33,00	0,10	1,65	0,17
	2018	0,57	6,00	0,09	3,20	32,00	0,10	0,94	0,48
Масса зерен с растения, г	2017	8,73	5,00	1,75	19,83	33,00	0,60	2,91	0,03
	2018	0,93	6,00	0,16	22,50	32,00	0,70	0,22	0,97
Масса 1000 зерен, г	2017	337,20	5,00	67,44	849,78	33,00	25,75	2,62	0,04
	2018	759,59	6,00	126,60	1065,83	32,00	33,31	3,80	0,01
Содержание белка в зерне, %	2017	35,51	5,00	7,10	176,66	34,00	5,20	1,37	0,26
	2018	23,47	5,00	4,69	138,95	31,00	4,48	1,05	0,41

Таблица 5. Средние значения количественных признаков в группах образцов пшеницы с различными гаплотипами гена *NAM-A1*

Признак	Год	<i>NAM-A1c</i>	<i>NAM-A1d</i>	<i>NAM-A1d/a</i>	<i>NAM-A1d/c</i>
Высота растения, см	2017	74,29±2,07	75,74±1,40	90,13±0,67	75,29±1,42
	2018	81,76±3,47	78,58±1,28	80,87±2,27	75,06±1,06
Продуктивная кустистость, шт	2017	3,18±0,11	2,56±0,08	3,53±0,13	2,73±0,10
	2018	3,83±0,18	3,21±0,09	4,33±0,67	3,41±0,17
Длина колоса, см	2017	8,72±0,49	9,35±0,32	8,00±0,13	9,43±0,25
	2018	8,15±0,56	9,35±0,28	8,73±0,43	9,29±0,19
Число колосков в колосе, шт	2017	15,99±0,33	14,87±0,47	14,47±0,60	16,01±0,59
	2018	15,02±0,54	13,63±0,47	14,80±0,80	14,72±0,52
Число зерен в колосе, шт	2017	32,25±2,63	26,61±1,95	33,03±1,37	31,74±1,54
	2018	32,26±1,82	32,26±2,47	25,73±0,0	36,33±1,40
Масса зерен с растения, г	2017	3,14±0,32	2,52±0,16	4,09±0,39	3,09±0,21
	2018	3,41±0,28	3,57±0,22	3,44±0,04	3,42±0,16
Масса 1000 зерен, г	2017	37,83±1,28	43,40±1,58	42,22±0,05	41,42±1,68
	2018	36,41±2,03	45,20±1,32	36,06±4,93	38,86±1,67
Содержание белка в зерне, %	2017	20,97±0,78	19,67±0,47	19,78±0,39	20,45±0,53
	2018	21,07±0,90	19,34±0,49	18,49±0,23	19,67±0,51

Как правило, наиболее высокие значения количественных признаков в разные годы исследования отмечены для различных гаплотипов *NAM-A1*. Например, в 2017 году более высокорослыми были растения пшеницы с гаплотипом *NAM-A1d/a*, а в 2018 году - *NAM-A1c* (табл. 5). Значимые отличия между изученными образцами пшеницы с различными гаплотипами *NAM-A1* в оба года исследований выявлены только по двум признакам. Так, наибольшие значения по продуктивной кустистости характерны для растений с гаплотипами *NAM-A1d/a*, а по массе 1000 зерен – с *NAM-A1d* (табл. 5).

Таким образом, значимые эффекты на признаки продуктивности у изученных нами образцов пшеницы оказывали гаплотипы *NAM-A1d* и *NAM-A1d/a*. В ряде работ показано, что наличие *NAM-A1d* ассоциировано с увеличением периода налива зерна и как следствие с более высокой урожайностью пшеницы. Присутствие гаплотипа *NAM-A1a* связывают с более коротким периодом налива зерна, но более интенсивным процессом ремобилизации азота, что приводит к повышенной белковости и уменьшению урожайности пшеницы [12]. Скорее всего, это объясняет низкую частоту встречаемости гаплотипа *NAM-A1a* среди современных элитных сортов мягкой пшеницы, селекция которых была в основном направлена на высокую продуктивность. Необходимо отметить, что несбалансиро-

ванность частот встречаемости различных гаплотипов гена *NAM-A1* у изученных нами образцов пшеницы также может влиять на оценку эффекта гаплотипа. В связи с этим, для выявления статистически достоверных ассоциаций гаплотипов гена *NAM-A1* с количественными признаками желательно использовать коллекцию пшеницы с более сбалансированным составом гаплотипов.

Выводы

Генотипирование SNP полиморфизмов гена *NAM-A1* у исследованных генотипов пшеницы с использованием разработанных нами ТаqMap маркеров показало, что гаплотип *NAM-A1c* наиболее часто встречался среди изученных сороричей *T. aestivum*, а *NAM-A1d* – среди сортов мягкой пшеницы. Линии пшеницы с чужеродным генетическим материалом чаще всего имели смешанные гаплотипы гена *NAM-A1*. Оценка эффекта гаплотипов *NAM-A1* на уровень проявления количественных признаков и содержания белка в зерне показала статистически значимую связь между аллельным состоянием гена *NAM-A1* и признаками «продуктивная кустистость» и «масса 1000 зерен». Наибольшее значение по массе 1000 зерен выявлено для растений с гаплотипом *NAM-A1d*, что указывает на ассоциацию данного гаплотипа с высокой урожайностью пшеницы.

References

- Olsen A.D., Ernst H.A., Leggio L.L., Skriver K. NAC transcription factors: structurally distinct, functionally diverse. *Trends Plant Sci.* 2005. Vol. 10, № 2. P. 79–87. doi: 10.1016/j.tplants.2004.12.010.
- Puranik S., Sahu P.P., Srivastava P.S., Prasad M. NAC proteins: regulation and role in stress tolerance. *Trends Plant Sci.* 2012. Vol. 17, № 6. P. 369–381. doi: 10.1016/j.tplants.2012.02.004.
- Pearce S., Tabbita F., Cantu D., Buffalo V., Avni R., Vazquez-Gross H., Zhao R., Conley C.J., Distelfeld A., Dubcovsky J. Regulation of Zn and Fe transporters by the GPC1 gene during early wheat monocarpic senescence. *BMC Plant Biology.* 2014. Vol. 14. P. 368–391. doi: 10.1186/s12870-014-0368-2.
- Podzimska-Sroka D., O'Shea C., Gragersen P.L., Skriver K. NAC transcription factors in senescence: from molecular structure to function in crops. *Planta.* 2015. Vol. 4, № 3. P. 412–448. doi: 10.3390/plants4030412.
- Uauy C., Distelfeld A., Fahima T., Blechl A., Dubcovsky J. A NAC gene regulating senescence improves grain protein, zinc, and iron content in wheat. *Science.* 2006. Vol. 314. P. 1298–1301. doi: 10.1126/science.1133649.
- Kade M.A., Barneix J., Olmos S., Dubcovsky J. Nitrogen uptake and remobilization in tetraploid Langdon durum wheat and a recombinant substitution line with the high grain protein gene Gpc-B1. *Plant Breeding.* 2005. Vol. 124, № 4. P. 343–349. doi: 10.1111/j.1439-0523.2005.01110.x.
- Uauy C., Brevis J.C., Dubcovsky J. The high grain protein content gene Gpc-B1 accelerates senescence and has pleiotropic effects on protein content in wheat. *J. Exp. Bot.* 2006. Vol. 57, № 11. P. 2785–2794. doi: 10.1093/jxb/erl047.
- Hagenblad J., Aspland L., Balfourier F., Ravel C., Leino M.W. Strong presence of the high grain protein content allele NAM-B1 in Fennoscandian wheat. *Theor. Appl. Genet.* 2012. Vol. 125, № 8. P. 1677–1686. doi: 10.1007/s00122-012-1943-2.
- Avni R., Zhao R., Pearce S., Jun Y., Uauy C., Tabbita F., Fahima T., Slade A., Dubcovsky J., Distelfeld A. Functional characterization of GPC-1 genes in hexaploid wheat. *Planta.* 2014. Vol. 239, № 2. P. 313–324. doi: 10.1007/s00425-013-1977-y.
- Cormier F., Throude M., Ravel C., Le Gouis J., Leveugle M., Lafarge S., Exbrayat F., Duranton N., Praud S. Detection of NAM-A1 natural variants in bread wheat reveals differences in haplotype distribution between a worldwide core collection and European elite germplasm. *Agronomy.* 2015. Vol. 5. P. 143–151. doi: 10.3390/agronomy5020143.

11. Yang R., Juhasz A., Zhang Y., Chen X., Zhang Y., She M., Zhang J., Maddern R., Edwards I., Diepeveen D., Islam S., Ma W. Molecular characterisation of the NAM-1 genes in bread wheat in Australia. *Crop and Pasture Science*. 2018. Vol. 69, № 12. P. 1173–1181. doi: 10.1071/CP18273
12. Alhabbar Z., Yang R., Juhasz A., Xin H., She M., Anwar M., Sultana N., Diepeveen D., MaW., Islam S. NAM gene allelic composition and its relation to grain-filling duration and nitrogen utilisation efficiency of Australian wheat. *PLoS ONE*. 2018. Vol. 13, № 10. e0205448. doi: 10.1371/journal.pone.0205448.

ORLOVSKAYA O.A., VAKULA S.I., KHOTYLEVA L.V., KILCHEVSKY A.V.

Institute of Genetics and Cytology, National Academy of Sciences of Belarus, Belarus, 220072, Minsk, Academycheskaya str., 27, e-mail: O.Orlovskaya@igc.by

ESTIMATION OF *NAM-A1* HAPLOTYPES EFFECT ON THE LEVEL OF QUANTITATIVE TRAITS AND GRAIN PROTEIN CONTENT IN WHEAT

Aim. *NAM-A1* gene plays an important role in the regulation of metabolic processes, the remobilization of nutrients from the wheat vegetative organs to grain. The aim of this work is the genotyping of SNP polymorphisms of the *NAM-A1* gene in introgression lines derived from the cross of bread wheat varieties with species of genus *Triticum*, as well as estimation of *NAM-A1* haplotypes effect on quantitative traits and grain protein content of the studied genotypes. **Methods.** *NAM-A1* gene polymorphisms were identified using the TaqMan - Real-time PCR. Statistical data analysis was carried out using MS Excel 2007, Statistica 10.0. **Results.** *NAM-A1c* haplotype is mainly found in the studied genus *Triticum* species, *NAM-A1d* - in bread wheat varieties, and mixed haplotypes - in the introgression wheat lines. Statistically significant associations among *NAM-A1* gene haplotypes and productive tillering of plants, the length of the main spike, the number of spikelets in the main spike and the thousand kernel weight were revealed. **Conclusions.** A significant effect of the *NAM-A1* haplotypes was established for the traits «productive tillering» and «thousand kernel weight». The highest thousand kernel weight was reached in plants carrying the haplotype *NAM-A1d*.

Keywords: *T. aestivum* L., species of genus *Triticum*, *NAM-A1*, SNP, quantitative characters.

ОРЛОВСЬКА О. А., ВАКУЛА С. В., ХОТИЛЕВА Л. В., КІЛЬЧЕВСЬКИЙ А. В.

Інститут генетики і цитології Національної академії наук Білорусі, Білорусь, 220072, м. Мінськ, вул. Академічна, 27, e-mail: O.Orlovskaya@igc.by

ОЦІНКА ЕФЕКТУ ГАПЛОТИПІВ ГЕНА *NAM-A1* НА РІВЕНЬ ПРОЯВУ КІЛЬКІСНИХ ОЗНАК І ВМІСТ БІЛКА В ЗЕРНІ ПШЕНИЦІ

Мета. Ген *NAM-A1* відіграє важливу роль у регуляції метаболічних процесів, ремобілізації поживних речовин із вегетативних органів рослини пшениці в зерно. Мета пропонованої роботи – генотипування SNP поліморфізмів гена *NAM-A1* в інтрогресивних ліній, отриманих від схрещування сортів ярої м'якої пшениці з видами роду *Triticum*, а також оцінка ефекту впливу гаплотипів *NAM-A1* на кількісні ознаки і вміст білка в зерні досліджених генотипів. **Методи.** Ідентифікація поліморфізмів гена *NAM-A1* проводилася з використанням розроблених нами TaqMan маркерів у режимі Real-time PCR. Для статистичної обробки даних застосовували програми MS Excel 2007, Statistica 10.0. **Результати.** У вивчених видах роду *Triticum* найчастіше трапляється гаплотип *NAM-A1c* у сортів *T. aestivum* L. **Результати.** У вивчених співродичів *T. aestivum* найчастіше *NAM-A1c*, у сортів *T. aestivum* – *NAM-A1d*, у інтрогресивних ліній пшениці змішані гаплотипи гена *NAM-A1*. Виявлено статистично достовірні асоціації гаплотипів гена *NAM-A1* з продуктивною куцистістю рослин, довжиною головного колоса, числом колосків у головному колосі і масою 1000 зерен. **Висновки.** Значний ефект гаплотипов *NAM-A1* встановлений для ознак «продуктивна куцистість» і «маса 1000 зерен». Найбільше значення за масою 1000 зернин виявлено для рослин із гаплотипом *NAM-A1d*.

Ключові слова: *T. aestivum* L., види роду *Triticum*, *NAM-A1*, SNP, кількісні ознаки.