

Письма

в

**ВАВИЛОВСКИЙ ЖУРНАЛ
ГЕНЕТИКИ И СЕЛЕКЦИИ**

Letters to Vavilov Journal of Genetics and Breeding

2023
И Ю Н Ь

Цитогенетика растений • Генетика развития растений •
Селекция растений • Молекулярная биология

Том 9
№2

PISMAVAVILOV@BIONET.NSC.RU

ПИСЬМА В ВАВИЛОВСКИЙ ЖУРНАЛ ГЕНЕТИКИ И СЕЛЕКЦИИ

Издание включено в

ПЕРЕЧЕНЬ РЕЦЕНЗИРУЕМЫХ НАУЧНЫХ ИЗДАНИЙ,

в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, по специальностям и отраслям науки (с 15.06.2023):

- 1.5.7. Генетика (биологические науки)
- 1.5.22. Клеточная биология (биологические науки)
- 4.1.2. Селекция, семеноводство и биотехнология растений (биологические науки)
- 4.1.2. Селекция, семеноводство и биотехнология растений (сельскохозяйственные науки)

CELL TECHNOLOGIES
REGENERATIVE MEDICINE
INTELLIGENT DATA SCIENCE
SYNTHETIC BIOLOGY
POSTGENOME
RESearch & DEVELOPMENT



Глубокоуважаемые коллеги!

Мы рады сообщить, что на конгресс “CRISPR-2023” зарегистрировалось более двухсот участников из 9 стран и 26 городов. На площадке мероприятия соберутся представители более 80 научных и производственно-технологических учреждений. Среди участников более 70 студентов и аспирантов, более 80 кандидатов наук, 25 докторов наук, 6 членов-корреспондентов и 3 академика РАН. На рассмотрении Программного комитета находится более 130 тезисов докладов.

[Регистрация продолжается.](#)

Спешите присоединиться!

География участников: 9 стран, 26 городов

- | | | |
|--------------|----------------|---------------|
| 1. Россия | 4. Узбекистан | 7. Китай |
| 2. Казахстан | 5. Азербайджан | 8. Кыргызстан |
| 3. Беларусь | 6. Армения | 9. Сирия |

Города-участники

- | | | |
|---------------------|---------------------|---------------|
| 1. Астана | 10. Казань | 19. Сириус |
| 2. Баку | 11. Кемерово | 20. Сургут |
| 3. Бекабад | 12. Ковров | 21. Ташкент |
| 4. Великий Новгород | 13. Красноярск | 22. Тольятти |
| 5. Витебск | 14. Москва | 23. Томск |
| 6. Воронеж | 15. Новосибирск | 24. Тюмень |
| 7. Екатеринбург | 16. Оболенск | 25. Улан-Удэ |
| 8. Ереван | 17. Одинцово | 26. Чебоксары |
| 9. Иркутск | 18. Санкт-Петербург | |

Учреждения-участники

1. Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова
2. Витебский государственный медицинский университет
3. Воронежский государственный медицинский университет им Н.Н. Бурденко
4. Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии
5. Институт биоинженерии им. К.Г. Скрябина
6. Институт биологии гена РАН
7. Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова
8. Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова
9. Институт биофизики СО РАН
10. Институт искусственного интеллекта МГУ им. М. В. Ломоносова
11. Институт медико-биологических проблем РАН
12. Институт медицинских клеточных технологий
13. Институт металлургии и материаловедения им. А.А. Байкова
14. Институт молекулярной биологии и генетики Национального медицинского исследовательского центра имени В. А. Алмазова
15. Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН
16. Институт регенеративной медицины МНОЦ МГУ им. М.В. Ломоносова
17. Институт трансляционной медицины Национального медицинского исследовательского центра акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова
18. Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН
19. Институт цитологии и генетики СО РАН
20. Институт цитологии РАН
21. Иркутский государственный медицинский университет
22. Казанский (Приволжский) федеральный университет
23. Клинический центр охраны здоровья семьи и репродукции
24. МГУ им. М.В. Ломоносова
25. Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова
26. МИРЭА – Российский технологический университет
27. МНТК «Микрохирургия глаза»
28. Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И. Скрябина
29. Московский физико-технический институт
30. Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича
31. Научно-исследовательский институт глазных болезней имени М.М. Краснова
32. Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии
33. Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии
34. Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии
35. Научно-технологический университет «Сириус»
36. Национальный исследовательский Томский государственный университет
37. Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е. Н. Мешалкина
38. Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова
39. Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина
40. НИИ кардиологии Томского национального исследовательского медицинского центра
41. НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний
42. НИИ медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра

Учреждения-участники

43. НИИ медицинской профилактики им. В. Ахундова
 44. НИЦ Курчатовский институт
 45. Новгородский государственный университет имени Ярослава Мудрого
 46. Новосибирский государственный аграрный университет
 47. Новосибирский государственный университет
 48. Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова
 49. Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова
 50. Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова
 51. Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова
 52. Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева
 53. Российско-Армянский университет
 54. Санкт-Петербургский государственный университет
 55. Санкт-Петербургский НИИ фтизиопульмонологии
 56. Сибирский государственный медицинский университет
 57. Сколковский институт науки и технологий
 58. Сургутский государственный университет
 59. Университет Сириус
 60. Уральский государственный медицинский университет
 61. Уральский федеральный университет
 62. Федеральный исследовательский центр угля и углехимии СО РАН
 63. Республиканский перинатальный центр Узбекистана
 64. Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского
 65. Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова
 66. Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина
 67. Федеральный научный центр овощеводства
 68. Федеральный нейрохирургический центр
 69. Федеральный центр мозга и нейротехнологий ФМБА России
 70. Федеральный центр мозга и нейротехнологий ФМБА РФ
 71. Физико-технический институт имени А.Ф. Иоффе
 72. ФИЦ «Биотехнологии» РАН
 73. Худжандский государственный университет имени академика Бободжона Гафура
 74. Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова
 75. Школа Медицины Университета Назарбаева
 76. Первый Клинический Медицинский Центр
 77. Биотехнологическая компания BIOCAD
 78. ООО «ИМБИАН ЛАБ»
 79. ООО «Мабскейл»
 80. ПАО «Институт стволовых клеток человека»
 81. Novel Software Systems
 82. АО «ГЕНЕРИУМ»
 83. Научный центр «Сигнал»
- и другие.

Научный рецензируемый журнал
Лисьма



ВАВИЛОВСКИЙ ЖУРНАЛ ГЕНЕТИКИ И СЕЛЕКЦИИ

Основан в 2015 году
Периодичность четыре выпуска в год
DOI 10.18699/LettersVJ-2023-9-07

Учредитель

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (ИЦиГ СО РАН), Новосибирск, Россия

Главный редактор

А.В. Кочетов – академик РАН, д-р биол. наук (ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия)

Заместители главного редактора

Н.П. Гончаров – академик РАН, д-р биол. наук (ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия)

Е.А. Салина – д-р биол. наук, профессор (ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия)

Ответственный секретарь

О.Ю. Шоева – канд. биол. наук (ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия)

Редакционная коллегия

О.С. Афанасенко – академик РАН, д-р биол. наук, профессор (Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия)

О.В. Ваулин – канд. биол. наук (ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия)

М.А. Вишнякова – д-р биол. наук, профессор (Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия)

Т.А. Гавриленко – д-р биол. наук, профессор (Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия)

Ю.Э. Гербек – канд. биол. наук (Еврейский университет в Иерусалиме, Реховот, Израиль)

И.М. Горобей – д-р с.-х. наук, профессор РАН (СО РАН, Новосибирск, Россия)

Е.И. Гультияева – д-р биол. наук (Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия)

Н.И. Дубовец – чл.-кор. НАН Беларуси, д-р биол. наук, доцент (Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь)

И.К. Захаров – д-р биол. наук, профессор (ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия)

К.В. Крутовский – канд. биол. наук, профессор (Гёттингенский университет им. Георга-Августа, Гёттинген, Германия)

А.М. Кудрявцев – чл.-кор. РАН, д-р биол. наук (Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия)

С.А. Лашин – канд. биол. наук (ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия)

А.Ю. Летягин – д-р мед. наук, профессор (ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия)

П.Н. Мальчиков – д-р с.-х. наук (Самарский НИИ сельского хозяйства им. Н.М. Тулайкова, пос. Безенчук, Россия)

Е.А. Орлова – канд. с.-х. наук (СибНИИРС – филиал ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия)

А.С. Пилипенко – канд. биол. наук (ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия)

Ю.И. Рагино – чл.-кор. РАН, д-р мед. наук, профессор (НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия)

И.Д. Рашаль – академик АН Латвии, д-р биол. наук, профессор (Институт биологии Латвийского университета, Саласпилс, Латвия)

Р.Р. Садоян – д-р биол. наук, профессор (Армянский государственный педагогический университет им. Х. Абовяна, Ереван, Армения)

А.А. Соловьев – д-р биол. наук, профессор РАН, профессор (Всероссийский центр карантина растений, Москва, Россия)

Н.А. Сурин – академик РАН, д-р с.-х. наук, профессор (Федеральный исследовательский центр КНЦ СО РАН – обособленное подразделение Красноярский НИИ сельского хозяйства, Красноярск, Россия)

В.А. Трифонов – д-р биол. наук, профессор (Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия)

В.С. Фишман – канд. биол. наук (ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия)

С.В. Шеховцов – канд. биол. наук (ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия)

Scientific Peer Reviewed Journal

Letters

to **VAVILOV JOURNAL
OF GENETICS AND BREEDING**

Founded in 2015
Published four issues per year
DOI 10.18699/LettersVJ-2023-9-07

Founder

Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (ICG SB RAS), Novosibirsk, Russia

Editor-in-Chief

A.V. Kochetov – Full Member of the Russian Academy of Sciences, Dr. Sci. (Biology) (ICG SB RAS, Novosibirsk, Russia)

Deputy Editors-in-Chief

N.P. Goncharov – Full Member of the Russian Academy of Sciences, Dr. Sci. (Biology) (ICG SB RAS, Novosibirsk, Russia)

E.A. Salina – Professor, Dr. Sci. (Biology) (ICG SB RAS, Novosibirsk, Russia)

Executive Secretary

O.Yu. Shoeva – Cand. Sci. (Biology) (ICG SB RAS, Novosibirsk, Russia)

Editorial board

O.S. Afanassenko – Full Member of the RAS, Professor, Dr. Sci. (Biology) (All-Russia Research Institute for Plant Protection, St. Petersburg, Russia)

N.I. Dubovets – Corr. Member of the NAS of Belarus, Associate Professor, Dr. Sci. (Biology) (Institute of Genetics and Cytology, NASB, Minsk, Belarus)

V.S. Fishman – Cand. Sci. (Biology) (ICG SB RAS, Novosibirsk, Russia)

T.A. Gavrilenko – Professor, Dr. Sci. (Biology) (N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), St. Petersburg, Russia)

I.M. Gorobei – Dr. Sci. (Biology) (Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia)

E.I. Gulyaeva – Dr. Sci. (Biology) (All-Russia Research Institute for Plant Protection, Saint Petersburg, Pushkin, Russia)

Yu.E. Herbeck – Cand. Sci. (Biology) (The Hebrew University of Jerusalem, Rehovot, Israel)

K.V. Krutovskiy – Professor, Cand. Sci. (Biology) (Georg-August University of Göttingen, Göttingen, Germany)

A.M. Kudryavtsev – Corr. Member of the RAS, Dr. Sci. (Biology) (Vavilov Institute of General Genetics, RAS, Moscow, Russia)

S.A. Lashin – Cand. Sci. (Biology) (ICG SB RAS, Novosibirsk, Russia)

A.Y. Letyagin – Professor, Dr. Sci. (Medicine) (ICG SB RAS, Novosibirsk, Russia)

P.N. Malchikov – Dr. Sci. (Agricul.) (Tulaikov Research Institute of Agriculture, Russian Agricultural Academy, Bezenchuk, Samara oblast, Russia)

E.A. Orlova – Cand. Sci. (Agricul.) (Siberian Research Institute of Plant Production and Breeding – Branch of the ICG SB RAS, Novosibirsk, Russia)

A.S. Pilipenko – Cand. Sci. (Biology) (ICG SB RAS, Novosibirsk, Russia)

Yu.I. Ragino – Corr. Member of the RAS, Professor, Dr. Sci. (Medicine) (Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the ICG SB RAS, Novosibirsk, Russia)

I.D. Rashal – Full Member of the LAS, Professor, Dr. Sci. (Biology) (University of Latvia, Salaspils, Latvia)

R.R. Sadoyan – Professor, Dr. Sci. (Biology), Dean of the Faculty of Biology, Chemistry and Geography (Kh. Abovyan Armenian State Pedagogical University, Yerevan, Armenia)

S.V. Shekhovtsov – Cand. Sci. (Biology), Head of the Genogeography Sector of the Palearctic (Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia)

A.A. Soloviev – Professor, Dr. Sci. (Biology), Deputy Director (All-Russian Plant Quarantine Center, Moscow, Russia)

N.A. Surin – Corr. Member of the Russian Academy of Sciences, Dr. Sci. (Agricul.), Professor, Head of Scientific Direction

V.A. Trifonov – Professor, Dr. Sci. (Biology) (Institute of Molecular and Cellular Biology, SB RAS, Novosibirsk, Russia)

O.V. Vaulin – Cand. Sci. (Biology) (ICG SB RAS, Novosibirsk, Russia)

M.A. Vishnyakova – Professor, Dr. Sci. (Biology) (N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), St. Petersburg, Russia)

I.K. Zakharov – Professor, Dr. Sci. (Biology) (ICG SB RAS, Novosibirsk, Russia)

СОДЕРЖАНИЕ • 2023 • 9 • 2

- 43** **Цитогенетика растений**
Оригинальное исследование
Особенности беккроссирования
моносомных линий хлопчатника *Gossypium hirsutum* L.
с моносомными беккроссными гибридами BC₁F₁ и BC₂F₁
(*Gossypium hirsutum* L. // *Gossypium barbadense* L.)
М.Ф. Санамьян, Ш.У. Бобохужаев, О.Г. Силкова
- 54** **Генетика развития растений**
Обзор
Стадии роста и развития пшеницы и их значение
в формировании элементов продуктивности
Т.Т. Ефремова, Е.В. Чуманова
- 81** **Селекция растений**
Оригинальное исследование
Изучение факультативных форм тритикале
после осеннего и весеннего сева
П.И. Стёпочкин, Н.Н. Ермошкина
- 86** **Молекулярная биология**
Оригинальное исследование
Использование молекулярных маркеров
в селекции мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.)
с различной антоциановой окраской зерновок
Е.И. Гордеева, О.Ю. Шоева, В.П. Шаманин, Е.К. Хлесткина
- 100** **Молекулярная биология**
Обзор
Роль внеклеточных нуклеиновых кислот
в процессах регенерации
В.П. Николин, Н.А. Попова

CONTENTS • 2023 • 9 • 2

- Plant cytogenetics**
- 43 **Original article**
Peculiarities of backcrossing of monosomic lines
of cotton *Gossypium hirsutum* L. with monosomic
BC₁F₁ и BC₂F₁ hybrids
(*Gossypium hirsutum* L. // *Gossypium barbadense* L.)
M.F. Sanamyan, Sh.U. Bobohujayev, O.G. Silkova
- Genetics of plant development**
- 54 **Review**
Stages of growth and development of wheat
and their importance in the formation of productivity elements
T.T. Efremova, E.V. Chumanova
- Plant breeding**
- 81 **Original article**
Study of facultative forms of Triticale
after autumn and spring planting
P.I. Steepochkin, N.N. Ermoshkina
- 86 **Original article**
The molecular markers applying in breeding
of spring bread wheat (*Triticum aestivum* L.) lines
with different anthocyanin coloration of the grains
E.I. Gordeeva, O.Y. Shoeva, V.P. Shamanin, E.K. Khlestkina
- Molecular biology**
- 100 **Review**
The role of extracellular nucleic acids
in regeneration processes
V.P. Nikolin, N.A. Popova

 pismavavilov.ru

DOI 10.18699/LettersVJ-2023-9-08

Оригинальное исследование

Особенности беккроссирования моносомных линий хлопчатника *Gossypium hirsutum* L. с моносомными беккроссными гибридами BC₁F₁ и BC₂F₁ (*Gossypium hirsutum* L. // *Gossypium barbadense* L.)

М.Ф. Санамьян¹ ✉, Ш.У. Бобохужаев¹, О.Г. Силкова²

Аннотация: Внесение аллелей улучшенного качества волокна от *Gossypium barbadense* L. в сорта широко культивируемого хлопчатника *Gossypium hirsutum* L. требует межвидовой интрогрессии, что предполагает использование линий с замещением отдельных хромосом. В данной работе при создании таких линий обнаружена тенденция снижения скрещиваемости, а также завязываемости и всхожести гибридных семян с увеличением числа беккроссов, выяснение причин которой представляет значительный интерес. При изучении скрещиваемости 12 моносомных и одной монотелосомной линий хлопчатника *G. hirsutum* с анеуплоидными гибридами BC₁F₁ выявлены различия в скрещиваемости (от 7.14 до 100 %), причем в восьми вариантах наблюдалось увеличение в BC₂F₁ по сравнению с гибридами BC₁F₁, тогда как в пяти вариантах – уменьшение (до 7.14 %). У гибридов BC₃F₁ определено значительное снижение скрещиваемости во всех вариантах (от 3.85 до 33.33 %), за исключением одной линии. В целом на протяжении четырех поколений зарегистрировано линейное снижение скрещиваемости в двух беккроссных вариантах (с линиями Мо17 и Тело21). Завязываемость гибридных семян также существенно различалась в BC₂F₁, где в девяти вариантах наблюдалось снижение числа семян (от 8.43 ± 2.16 до 64.35 ± 4.47 %), а в четырех – увеличение по сравнению с гибридами BC₁F₁. Для гибридов BC₃F₁, наоборот, было характерно увеличение завязываемости семян в восьми вариантах, тогда как в трех – значительное снижение (от 7.14 ± 3.97 до 41.46 ± 7.69 %). Чередование высоких и низких показателей скрещиваемости и завязываемости семян объяснялось межвидовыми особенностями, специфичностью нехваток и генетической обусловленностью такого снижения у исходных моносомиков. Выявлено снижение всхожести беккроссных семян BC₂F₁ в шести вариантах скрещиваний (от 30.00 до 87.71 %), тогда как в семи других вариантах – увеличение по сравнению с гибридами BC₁F₁. Гибриды BC₃F₁ характеризовались снижением всхожести семян в пяти вариантах (от 44.00 до 82.35 %) и увеличением – в шести. Снижение всхожести происходило из-за низкого прорастания семян с нуллисомией по сравнению с дисомными сибсами, что приводило к задержке общих темпов всхожести. Показана перспективность изучения беккроссных семей с достаточным числом гибридов и высокой всхожестью семян для выявления моносомных генотипов с чужеродным замещением хромосом вида *G. barbadense* в процессе дальнейшего беккроссирования.

Ключевые слова: беккроссирование; скрещиваемость; завязываемость семян; всхожесть семян; хлопчатник; *G. hirsutum* L.; *G. barbadense* L.

Для цитирования: Санамьян М.Ф., Бобохужаев Ш.У., Силкова О.Г. Особенности беккроссирования моносомных линий хлопчатника *Gossypium hirsutum* L. с моносомными беккроссными гибридами BC₁F₁ и BC₂F₁ (*Gossypium hirsutum* L. // *Gossypium barbadense* L.). *Письма в Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2023;9(2):43-53. DOI 10.18699/LettersVJ-2023-9-08

Благодарности: Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства высшего образования, науки и инноваций Республики Узбекистан в рамках проекта Ф-ОТ-2021-155.

Original article

Peculiarities of backcrossing of monosomic lines of cotton *Gossypium hirsutum* L. with monosomic BC₁F₁ and BC₂F₁ hybrids (*Gossypium hirsutum* L. // *Gossypium barbadense* L.)

M.F. Sanamyan¹ ✉, Sh.U. Bobohujayev¹, O.G. Silkova²

Abstract: The introduction of alleles of improved fiber quality from *Gossypium barbadense* L. into varieties of widely cultivated cotton *Gossypium hirsutum* L. requires interspecific introgression, which involves the use of lines with the substitution of individual

¹ Национальный университет Узбекистана имени Мирзо Улугбека, Ташкент, Узбекистан
Mirzo Ulugbek National University of Uzbekistan, Tashkent, Uzbekistan

² Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия
Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

✉ sanam_marina@rambler.ru

© Санамьян М.Ф., Бобохужаев Ш.У., Силкова О.Г., 2023

chromosomes. In this work, when creating such lines, a tendency was found to reduce the crossing, as well as the setting and germination of hybrid seeds with an increase in the number of backcrosses, the elucidation of the reasons for which is of great interest for research. A study of the crossing of 12 monosomic and one monotelosomal line of cotton *G. hirsutum* with aneuploid BC₁F₁ hybrids found differences in crossability (from 7.14 to 100 %), with eight variants showing an increase in BC₂F₁ compared to BC₁F₁ hybrids, while in five variants – a decrease (up to 7.14 %). In BC₃F₁ hybrids, a significant decrease in crossability was observed in all variants (from 3.85 to 33.33 %), except for one line. In general, over the course of four generations, there was a linear decrease in crossing in two backcross variants (with lines Mo17 and Telo21). The setting of hybrid seeds also differed significantly in BC₂F₁, where in nine variants there was a decrease in the number of seeds (from 8.43 ± 2.16 to 64.35 ± 4.47 %), and in four variants an increase compared to BC₁F₁ hybrids. In BC₃F₁ hybrids, on the contrary, an increase in seed setting was observed in eight variants, while in three variants there was a significant decrease (from 7.14 ± 3.97 to 41.46 ± 7.69 %). The alternation of high and low rates of crossing and setting was explained by interspecies features, the specificity of deficiencies, and the genetic conditionality of such a decrease in the original monosomics. The study of the germination of backcross seeds BC₂F₁ revealed its decrease in six variants of crosses (from 30.00 to 87.71 %), while in seven other variants it increased compared to BC₁F₁ hybrids. Hybrids BC₃F₁ were characterized by a decrease in seed germination in five variants (from 44.00 to 82.35 %) and an increase in six. The decrease in germination was due to the low germination of seeds with nullisomy compared to disomic siblings, which led to a delay in the overall germination rate. The study of backcross families with a sufficient number of hybrids and high seed germination is shown to be promising in order to identify monosomic genotypes with foreign substitution of *G. barbadense* chromosomes during further backcrossing.

Key words: backcrossing; crossing; seed setting; seed germination; cotton; *G. hirsutum* L.; *G. barbadense* L.

For citation: Sanamyan M.F., Bobohujayev Sh.U., Silkova O.G. Peculiarities of backcrossing of monosomic lines of cotton *Gossypium hirsutum* L. with monosomic BC₁F₁ and BC₂F₁ hybrids (*Gossypium hirsutum* L. // *Gossypium barbadense* L.). *Pisma v Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Letters to Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2023;9(2):43-53. DOI 10.18699/LettersVJ-2023-9-08 (in Russian)

Acknowledgments: The study was financially supported by the Ministry of Higher Education, Science and Innovation of the Republic of Uzbekistan within the framework of the F-OT-2021-155 project.

Введение

Растения хлопчатника вида *Gossypium barbadense* L. ($2n = 52$, геномная формула $2(AD)_2$) имеют высокое качество волокна, но характеризуются более низкой урожайностью в сравнении с сортами вида *Gossypium hirsutum* L. ($2n = 52$, геномная формула $2(AD)_1$), поэтому селекционеры давно стремятся к объединению лучших признаков этих видов хлопчатника, однако на сегодняшний день не добились нужного результата. Хотя гибриды между этими видами получаются легко и в значительной степени фертильны, в потомстве отмечены бесплодие, цитологические нарушения, отклонения при расщеплении, ограниченная рекомбинация и плохие агрономические качества (Beasley, Brown, 1942; Reinisch et al., 1994). В связи с этим внесение аллелей, контролирующих признак «качество волокна», от вида *G. barbadense* в коммерческие сорта культивируемого хлопчатника *G. hirsutum* путем межвидовой интрогрессии генетического материала с помощью линий с замещением отдельных хромосом или их плечей востребовано в селекционных программах. У таких линий отдельные хромосомы или плечи хромосом вида *G. hirsutum* заменяются гомеологичной чужеродной хромосомой или фрагментом хромосомы вида *G. barbadense* (Saha et al., 2006b, 2010; Jenkins et al., 2007). Сравнение замещенных линий (CS-B) с рекуррентным родителем по различным признакам позволило определить генетические эффекты замещений хромосом (Saha et al., 2004), выявить влияние аллелей, контролирующих важные QTL (Saha et al., 2006b), охарактеризовать признаки волокна (Saha et al., 2008), изучить потомков от диаллельных скрещиваний шести замещенных линий между собой по признакам волокна (Saha et al., 2010), проанализировать двойные гетерозиготные комбинации (CS-B × CS-B) в сравнении с другими комбинациями (CS-B × TM-1) (Saha et al., 2011), а также использовать взаимодействия между линиями для выявления и количественного определения частичного диаллельного сопряжения (Saha et al., 2013a).

К настоящему времени в США получены неполные серии замещенных линий хлопчатника с применением трех тетраплоидных видов: *G. barbadense* (Stelly et al., 2005), *Gossypium tomentosum* Nutt. ex Seem. (Saha et al., 2006b) и *Gossypium mustelinum* Miers ex Watt. (Saha et al., 2013b). Эти линии позволили определить влияние отдельных хромосом на проявление различных признаков. В частности, изучен вклад хромосом 1, 4 и 18 тетраплоидных видов *G. hirsutum*, *G. barbadense* и *G. tomentosum* в урожайность и качество волокна (Jenkins et al., 2017). В других случаях выяснено влияние на процентное содержание белка и масла в семенах хлопчатника трех специфических хромосом или сегментов хромосом из разнообразного генетического фона, включая *G. barbadense*, *G. tomentosum* и *G. mustelinum* (Saha et al., 2020).

Однако широкое использование этих линий в генетических исследованиях затруднено, так как результаты молекулярно-генетических исследований не подтвердили замещение хромосом у нескольких линий (Gutiérrez et al., 2009; Saha et al., 2015; Ulloa et al., 2016; Fang et al., 2023). По-видимому, причины такого отсутствия необходимо искать в особенностях поведения донорных хромосом при получении данных линий. В процессе создания замещенных линий хлопчатника не изучены особенности скрещиваемости, завязываемости и всхожести гибридных семян, а также не проанализировано поведение хромосом вида *G. barbadense* в мейозе у беккресных гибридов. Тем не менее при исследовании таких гибридов нами обнаружены генетические различия между моносомиками BC₂F₁ и BC₃F₁ по профилю хромосомо-специфичных микросателлитных SSR-маркеров, которые указывали на присутствие замещений только по отдельным хромосомам генома, тогда как в других вариантах выявлено отсутствие замещения по другим хромосомам у беккресных гибридов (Санамьян и др., 2023, в печати). Это косвенно указывало на особенности поведения хромосом вида *G. barbadense* в генотипической среде моносомных линий вида *G. hirsutum* в процессе беккресирования, которые

невозможно было зарегистрировать на стадии метафазы I мейоза.

В Национальном университете Узбекистана имени Мирзо Улугбека создана новая коллекция моносомных и монотелосомных линий хлопчатника (Sanamyan et al., 2014), на основе которых начато создание линий с замещением отдельных хромосом (Санамьян и др., 2016). Получение таких линий включает гибридизацию анеуплоидных линий с донорной линией Pima 3-79 вида *G. barbadense*, выявление моносомных межвидовых гибридов F₁ и пятикратное беккроссирование гибридов в качестве мужского родителя с рекуррентными анеуплоидными линиями с последующим самоопылением дисомных растений в потомстве BC₅F₁ и, как следствие, получением новых линий с замещением специфических пар хромосом, которые имели моносомию у исходных моносомных линий хлопчатника *G. hirsutum*.

Ранее нами представлены результаты анализа скрещиваемости и завязываемости гибридных семян F₁ и F₁BC₁, полученных от скрещивания анеуплоидных линий хлопчатника *G. hirsutum* с линией Pima 3-79 вида *G. barbadense*, а также с гибридами F₁ (Sanamyan et al., 2022). Обнаружена тенденция снижения скрещиваемости, завязываемости и всхожести гибридных беккроссных семян в ряду последующих беккроссных поколений. Таким образом, выяснение причин данного явления играет значимую роль в успешности создания новых линий. Уменьшение числа гибридных растений в беккроссных потомствах приводило к отсутствию воспроизводства моносомного состояния в некоторых беккроссных семьях. Определение генетических различий по профилю хромосомо-специфичных микросателлитных SSR-маркеров между беккроссными моносомиками BC₂F₁ и BC₃F₁ и элиминация донорной хромосомы *G. barbadense* L. у некоторых из них (Санамьян и др., в печати) указывали на необходимость использования в таких исследованиях беккроссных семей с достаточным числом гибридов для того, чтобы существовала возможность успешного воспроизводства моносомного состояния и выявления моносомных генотипов с замещением отдельных хромосом в беккроссных потомствах.

Цель данной работы заключалась в получении и изучении беккроссных гибридов BC₂F₁ и BC₃F₁ с чужеродным замещением хромосом, созданных от беккроссных скрещиваний оригинальных моносомных линий хлопчатника цитогенетической коллекции Узбекистана, с анеуплоидными беккроссными гибридами BC₁F₁ и BC₂F₁ соответственно. В настоящей статье приведены результаты изучения особенностей беккроссирования моносомных линий хлопчатника *G. hirsutum* с анеуплоидными беккроссными гибридами BC₁F₁ и BC₂F₁. В данной работе изучена скрещиваемость моносомных линий с анеуплоидными беккроссными гибридами BC₁F₁ и BC₂F₁, а также проанализированы завязываемость и всхожесть гибридных семян у BC₂F₁ и BC₃F₁.

Материалы и методы

Растительный материал

Моносомные и монотелосомные линии цитогенетической коллекции хлопчатника Узбекистана созданы на основе высокоинбредной линии Л-458, полученной в результате многолетнего самоопыления (F₂₀) с применением сорта 108-Ф.

Для создания цитогенетической коллекции использованы различные методы облучения семян и пыльцы, а также потомство растений с транслокациями и десинапсисом (Санамьян, 2020). Описанные в работе линии цитогенетической коллекции хлопчатника Национального университета Узбекистана имени Мирзо Улугбека (Ташкент) представлены в таблице.

Линия Pima 3-79 вида *G. barbadense* не чувствительна к фотопериоду и высоко гомозиготна, так как происходит от дигиплоида (Endrizzi et al., 1985). Эта линия широко использована в качестве родителя в генетических и геномных исследованиях (Hulse-Kemp et al., 2015), а также в роли родителя-донора замещенной хромосомы (CS) или отдельных плеч хромосом от вида *G. barbadense* в данном исследовании. Для получения анеуплоидных беккроссных гибридов BC₂F₁ оригинальные моносомные и монотелосомные линии беккроссировали с моносомными и монотелосомными гибридами BC₁F₁ (Mo × F₁ (Mo × Pima 3-79)) или BC₁F₁ (Telo × F₁ (Telo × Pima 3-79)). Сходно для получения беккроссных гибридов BC₃F₁ анеуплоидные линии скрещивали с беккроссными гибридами BC₂F₁, у которых моносомия была по тем же хромосомам, что и у исходных моносомиков *G. hirsutum*.

Все растения исходных линий и гибридов разных поколений круглогодично культивировали в теплице Национального университета Узбекистана.

Скрещиваемость, завязываемость и всхожесть гибридных семян

Скрещиваемость моносомных линий *G. hirsutum* с анеуплоидными беккроссными гибридами BC₁F₁ и BC₂F₁ с чужеродным замещением хромосом изучали путем подсчета процента количества полученных коробочек от числа проведенных скрещиваний. Аналогично оценивали завязываемость гибридных семян BC₂F₁ и BC₃F₁, полученных от скрещиваний, рассчитывая процент количества полноценных семян от общего числа созревших, незрелых семян и неоплодотворенных яйцеклеток в виде улюков. Всхожесть гибридных семян BC₂F₁ и BC₃F₁ определяли подсчетом числа проросших семян от числа высеванных в процентах.

Статистическую обработку полученных данных проводили методом определения ошибки выборочной средней по ранее описанной формуле (Доспехов, 1985).

Результаты

Особенности скрещиваемости, завязываемости и всхожести гибридных семян BC₂F₁

Моносомные линии вида *G. hirsutum* цитогенетической коллекции хлопчатника Узбекистана скрещивали с беккроссными моносомными растениями BC₁F₁ (Mo × F₁ (Mo × Pima 3-79)), у которых моносомия была по тем же хромосомам, что и у исходных моносомиков *G. hirsutum*. В результате обнаружено, что часть гибридных комбинаций BC₂F₁, полученных от скрещиваний восьми моносомных линий (Mo58, Mo59, Mo75, Mo34, Mo92, Mo27, Mo94, Mo48) с моносомией по хромосомам 4, 6, 7, 12 A_c-субгенома и 18 D_c-субгенома, характеризовались высоким процентом скрещиваемости, где в трех вариантах (с Mo58, Mo59, Mo94) из восьми вышеуказанных наблюдалась 100 % скрещиваемость в сравнении с гибридами BC₁F₁ (рис. 1). Пять беккроссных вари-

Моносомные и монотелосомные линии хлопчатника *Gossypium hirsutum* L. цитогенетической коллекции хлопчатника Узбекистана

Monosomic and monotelosomal lines of cotton *Gossypium hirsutum* L. of the cytogenetic collection of cotton in Uzbekistan

№	Хехватка хромосомы	Размер унивалента	Условное обозначение линии	Линия
1	2	Крупный	Мо16	Моносомная линия Мо16
2			Мо38	Моносомная линия Мо38
3			Мо58	Моносомная линия Мо58
4	4	Средний	Мо59	Моносомная линия Мо59
5			Мо60	Моносомная линия Мо60
6			Мо75	Моносомная линия Мо75
7		Крупный	Мо34	Моносомная линия Мо34
8	6		Мо92	Моносомная линия Мо92
9	7	Средний	Мо27	Моносомная линия Мо27
10	12	Крупный	Мо94	Моносомная линия Мо94
11	18	Среднемелкий	Мо48	Моносомная линия Мо48
12	22	Средний	Мо17	Моносомная линия Мо17
13	Тело11	Гетероморфный бивалент	Тело21	Монотелосомная линия Тело21

антов BC_2F_1 выделялись уменьшением скрещиваемости, причем в четырех из них, полученных при гибридизации с моносомными линиями Мо16, Мо38 и Мо60 и Мо17 с отсутствием хромосом 2, 4 A_1 -субгенома и 22 D_1 -субгенома, отмечено существенное снижение скрещиваемости (до 13.33, 7.14, 28.57 и 28.57 % соответственно) в сравнении с гибридами BC_1F_1 . Монотелосомная линия Тело21 с отсутствием плеча хромосомы 11 A_1 -субгенома также отличалась снижением скрещиваемости (до 29.41 %) в сравнении с гибридом BC_1F_1 .

Завязываемость гибридных семян у растений BC_2F_1 , полученных при скрещивании моносомных линий с моносомными гибридами BC_1F_1 , уменьшилась у большинства гибридов. Лишь незначительное увеличение завязываемости беккроссных семян BC_2F_1 выявлено при гибридизации четырех моносомных линий (Мо58, Мо59, Мо92, Мо27) с моносомией по хромосомам 4, 6 и 7 A_1 -субгенома с соответствующими моносомниками BC_1F_1 (рис. 2). В BC_2F_1 при скрещивании монотелосомной линии Тело21 по хромосоме 11 A_1 -субгенома с монотелосомным гибридом BC_1F_1 определено наиболее значительное снижение завязываемости (до 8.43 ± 2.16 %).

Всхожесть беккроссных семян BC_2F_1 , полученных от скрещиваний оригинальных линий с моносомными гибридами BC_1F_1 , была немного выше в шести вариантах скрещиваний (с участием линий Мо16, Мо60, Мо75, Мо92, Мо27, Мо17) в сравнении с гибридами BC_1F_1 (рис. 3). В шести вариантах BC_2F_1 (с участием линий Мо38, Мо58, Мо59, Мо34, Мо94, Мо48) наблюдалось незначительное снижение всхожести – два варианта (BC_2F_1 (Мо38 \times BC_1F_1 (925₁₁)) и BC_2F_1 (Мо58 \times BC_1F_1 (115₁))) выделялись значительным снижением всхожести (до 30.00 и 34.38 % соответственно). Однако при скрещивании монотелосомной линии Тело21 по хромосоме 11 A_1 -субгенома с монотелосомным гибридом BC_1F_1 получены семена с высокой всхожестью.

Особенности скрещиваемости, завязываемости и всхожести гибридных семян BC_3F_1

Продолжением работы стало беккроссирование моносомиков хлопчатника цитогенетической коллекции Узбекистана моносомниками BC_2F_1 (Мо \times BC_1F_1 (Мо \times F_1 (Мо \times Pima 3-79))). Большинство беккроссных гибридов, полученных от скрещиваний моносомиков по хромосомам 4, 6, 7, 12, 18 и 22 (Мо58, Мо59, Мо60, Мо75, Мо92, Мо27, Мо94, Мо48 и Мо17), характеризовались значительным снижением скрещиваемости. Так, в беккроссном варианте BC_3F_1 (Мо17 \times BC_2F_1 288₁) с замещением хромосомы 22 скрещиваемость снижалась до 3.85 % в сравнении с гибридами BC_2F_1 (рис. 4). При беккроссировании гибридом BC_2F_1 монотелосомной линии Тело21 по хромосоме 11 также отмечено уменьшение скрещиваемости (до 11.54 %) в BC_3F_1 в сравнении с BC_2F_1 (29.41 %). Только для одной линии (Мо34) с моносомией по хромосоме 6 определено увеличение скрещиваемости в BC_3F_1 (до 58.33 %) в сравнении с гибридом BC_2F_1 (35.71 %).

Завязываемость гибридных семян BC_3F_1 , полученных от скрещиваний моносомных линий с моносомниками BC_2F_1 , увеличилась у большинства линий (от 17.01 ± 3.10 до 70.00 ± 8.37 %) (рис. 5). Исключение составили гибриды BC_3F_1 с незначительным снижением завязываемости семян, которые были получены при скрещивании моносомиков Мо27 и Мо17 по хромосомам 7 и 22 с гибридами BC_2F_1 . Незначительный рост завязываемости семян (до 7.14 ± 3.97 %) в потомстве BC_3F_1 в сравнении с гибридами BC_2F_1 (8.43 ± 2.16 %) обнаружен при скрещивании с монотелосомной линией Тело21 по хромосоме 11.

Всхожесть семян у беккроссных гибридов BC_3F_1 характеризовалась незначительным увеличением в шести вариантах скрещиваний (с участием линий Мо58, Мо75, Мо34, Мо94, Мо48 и Мо17) в сравнении с гибридами BC_2F_1 . Остальные четыре варианта скрещиваний (с участием линий Мо59, Мо60, Мо92, Мо27) выделялись снижением всхожести (от

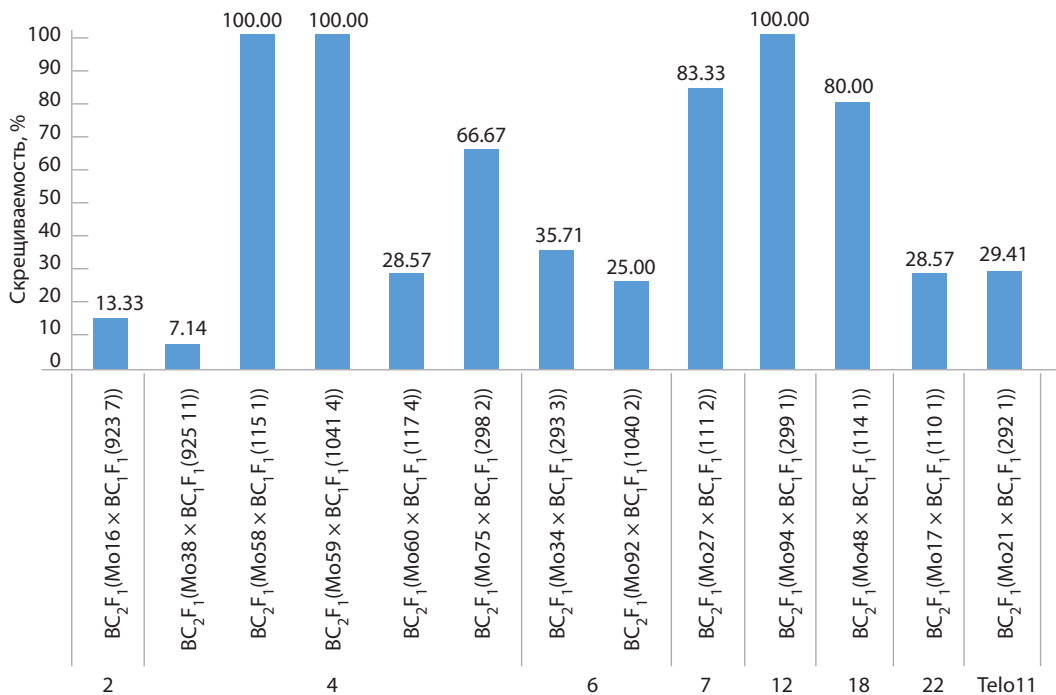


Рис. 1. Скрещиваемость анеуплоидных линий хлопчатника *G. hirsutum* с беккроссными анеуплоидными гибридами BC₁F₁ (Мо × F₁ (Мо × Pima 3-79)) или BC₁F₁ (Telo × F₁ (Telo × Pima 3-79))

Fig. 1. Crossing of aneuploid lines of cotton *G. hirsutum* with the backcross aneuploidy hybrids BC₁F₁ (Мо × F₁ (Мо × Pima 3-79)) or BC₁F₁ (Telo × F₁ (Telo × Pima 3-79))

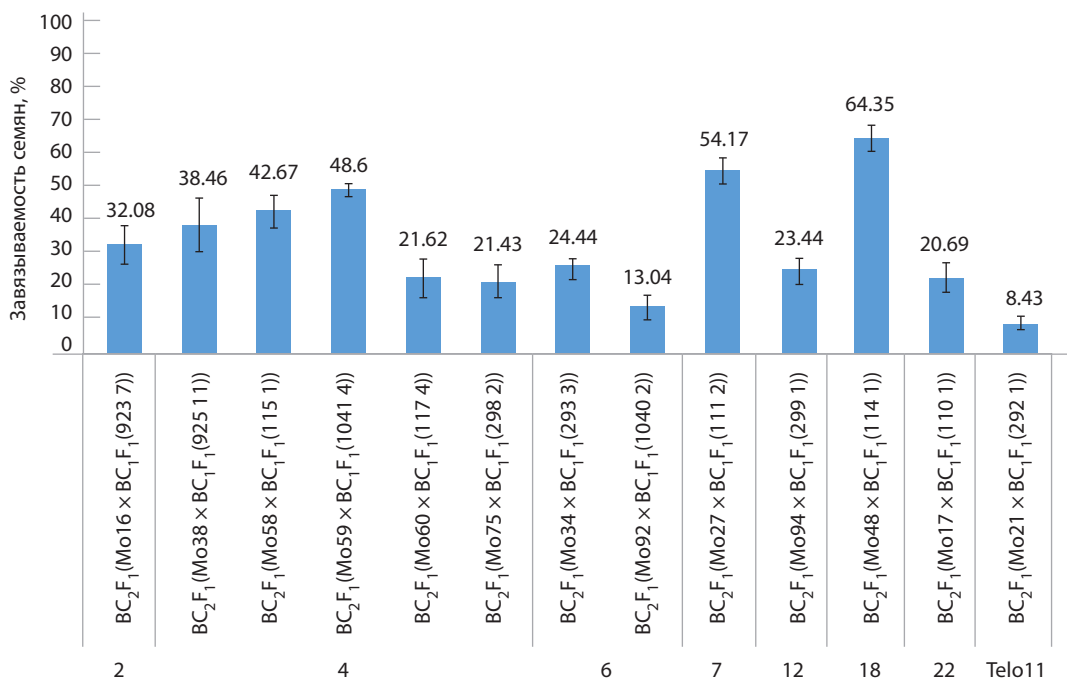


Рис. 2. Завязываемость гибридных семян BC₂F₁, полученных от скрещиваний моносомных и монотелосомной линий хлопчатника *G. hirsutum* с беккроссными анеуплоидными гибридами BC₁F₁ (Мо × F₁ (Мо × Pima 3-79)) или BC₁F₁ (Telo × F₁ (Telo × Pima 3-79))

Планки погрешности соответствуют ошибке выборочной доли

Fig. 2. Setting of BC₂F₁ hybrid seeds obtained from crosses of monosomic and monotelosomic lines of cotton with the backcross aneuploidy hybrids BC₁F₁ (Мо × F₁ (Мо × Pima 3-79)) or BC₁F₁ (Telo × F₁ (Telo × Pima 3-79))

Error bars correspond to sample fraction error

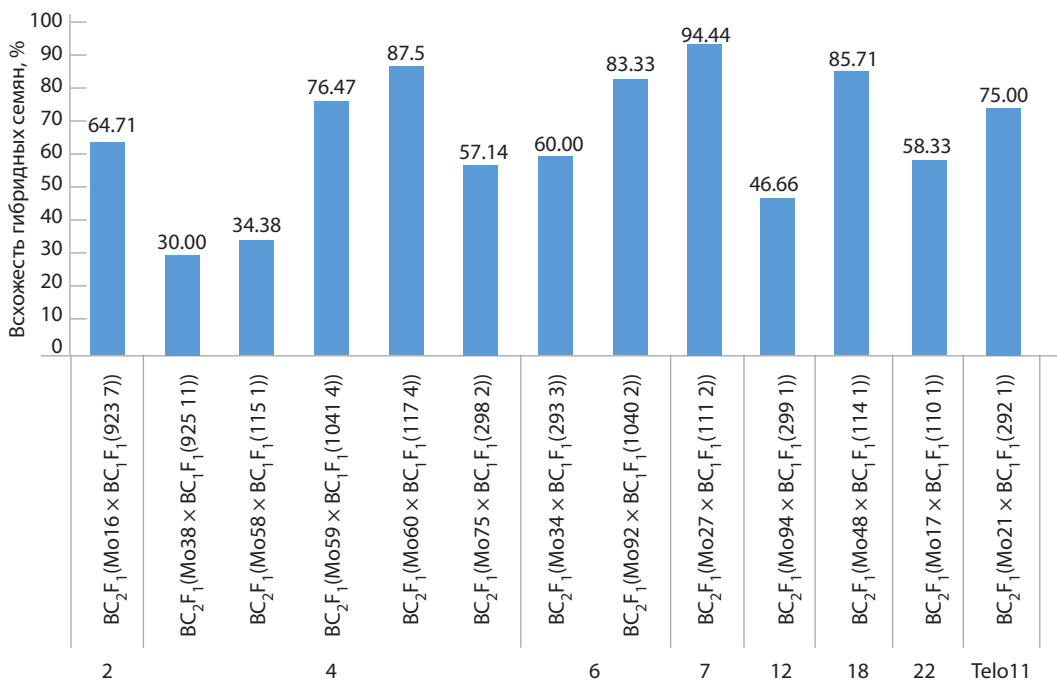


Рис. 3. Всхожесть гибридных семян BC₂F₁, полученных от скрещиваний моносомных и монотелосомной линий хлопчатника *G. hirsutum* с беккроссными анеуплоидными гибридами BC₁F₁ (Мо × F₁ (Мо × Pima 3-79)) или BC₁F₁ (Telo × F₁ (Telo × Pima 3-79))

Fig. 3. Germination of BC₂F₁ hybrid seeds obtained from crosses of monosomic and monotelodisome lines of cotton with the backcross aneuploidy hybrids BC₁F₁ (Мо × F₁ (Мо × Pima 3-79)) or BC₁F₁ (Telo × F₁ (Telo × Pima 3-79))

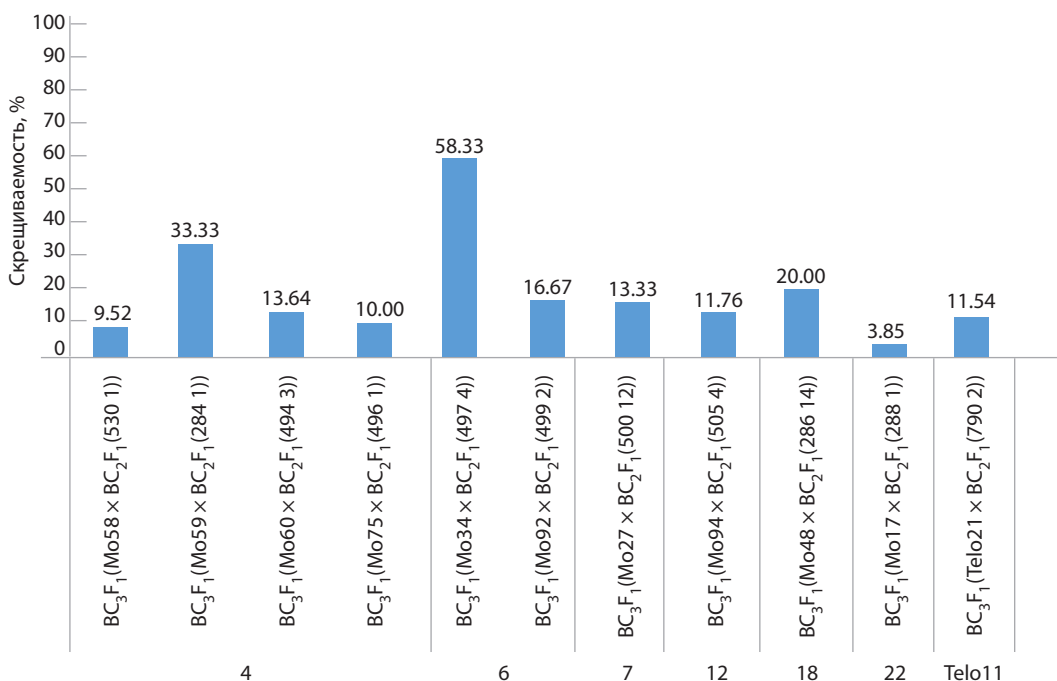


Рис. 4. Скрещиваемость анеуплоидных линий хлопчатника *G. hirsutum* с беккроссными анеуплоидными гибридами BC₂F₁ (Мо × BC₁F₁ (Мо × F₁ (Мо × Pima 3-79))) или BC₂F₁ (Telo × BC₁F₁ (Telo × F₁ (Telo × Pima 3-79)))

Fig. 4. Crossing of aneuploid lines of cotton *G. hirsutum* with the backcross aneuploidy hybrids BC₂F₁ (Мо × BC₁F₁ (Мо × F₁ (Мо × Pima 3-79))) or BC₂F₁ (Telo × BC₁F₁ (Telo × F₁ (Telo × Pima 3-79)))

44.00 до 82.35 %). Всхожесть семян у гибридов BC₃F₁, полученных с участием линии Тело21 с телоцентриком по хромосоме 11, также снижалась (до 66.67 %) в сравнении с гибридами BC₂F₁ (75.00 %) (рис. 6).

Обсуждение

Как известно, генетическое разнообразие служит основой улучшения любой сельскохозяйственной культуры. Увеличению генетического разнообразия способствует расширение первичного генофонда. Однако у тетраплоидного хлопчатника существуют проблемы, связанные с генетическими ограничениями, возникшими в результате особенностей его происхождения. Так, J.F. Wendel и коллеги (1989) сообщили, что первым случаем сужения генетического разнообразия у хлопчатника была единичная межвидовая гибридизация между A- и D-геномными диплоидными видами во время образования тетраплоидных видов, которая произошла всего 1–2 млн лет назад и привела к узкому исходному генофонду. Вторым генетическим ограничением стало одомашнивание хлопчатника Upland (*G. hirsutum*) из небольшого количества диких генотипов. Третьим примером ограничения генетического разнообразия можно считать то, что всего несколько исходных потомств привезено в США, а затем распространилось по Китаю, Индии, Австралии и другим странам (Hutchinson et al., 1947) в качестве предков элитного культивируемого генофонда.

Поскольку отсутствие широкого генетического разнообразия считается критической проблемой в селекционных программах хлопчатника (Wendel et al., 1989; Bowman, 1999; Bowman et al., 2006), разработано несколько способов решения этой проблемы с использованием разных подходов, один из которых заключается в интрогрессии полезных аллелей в генотип ширококультивируемого вида *G. hirsutum* из генома *G. barbadense* путем замещения отдельных хромосом (Stelly et al., 2005; Saha et al., 2012). Такие линии служат важным источником для селекции, увеличивая генетическое разнообразие *G. hirsutum* (Jenkins et al., 2006, 2007). Так, с помощью созданных 20 замещенных линий по отдельным хромосомам хлопчатника вида *G. barbadense* (Saha et al., 2006b, 2013a, 2015) (CS-B02, CS-B04, CS-B16, CS-B17, CS-B22Lo, CS-B22sh, CS-B25) показано, что определенные хромосомы оказывают влияние на удлинение, выход и прочность волокна, микронейр и другие параметры в сравнении с исходными линиями TM-1 и Pima 3-79 (Saha et al., 2004). Кроме того, получение 45 межвидовых моносомных и монотелосомных замещенных гибридов F₁ *G. hirsutum* с диким видом хлопчатника *G. tomentosum* Nutt ex Seem., эндемичным для сухого и скалистого побережья Гавайских островов (Saha et al., 2006a), также расширило генетическое разнообразие. Увеличению разнообразия способствовало и создание 25 анеуплоидных гибридов F₁ *G. hirsutum* с замещением хромосом и отдельных плеч хромосом вида *G. mustelinum* Miers ex Watt., включая 13 моносомных гибридов, каждый из которых имел различную хромосому *G. mustelinum* (Saha et al., 2013b).

Необходимо подчеркнуть, что в научной литературе хорошо освещен вопрос скрещиваний пшеницы с рожью: так, успех гибридизации может варьировать от 0 до 70 %. Выяс-

нено, что хорошая скрещиваемость пшеницы с рожью детерминирована рецессивными генами (*Kr₁* и *Kr₂*), когда при рецессивности обоих генов наблюдается самое высокое число скрещиваний (Щапова, Кравцова, 1990). Наиболее сильное влияние на признак оказывают гены *SKr* и *Kr₁*, которые локализованы в хромосоме 5B. Молекулярные маркеры, разработанные для гена-супрессора (*SKr*), применяли для контроля переноса рецессивного аллеля в другие генотипы мягкой пшеницы. Показана эффективность этих маркеров для выявления форм с высокой скрещиваемостью (Поротников и др., 2020, 2022).

У хлопчатника успех в скрещиваниях между видами обусловлен хромосомным составом исходных форм, поскольку тетраплоидные виды характеризуются высокой скрещиваемостью, а скрещивания диплоидных разногеномных видов, также как диплоидных видов с тетраплоидными, отличаются низкими показателями завязывания гибридных коробочек. Так, Ф.М. Мауер (1954) проводил гибридизацию разных видов хлопчатника и выяснил, что *G. hirsutum* свободно скрещивается с такими тетраплоидными видами, как *G. barbadense* и *G. tomentosum*, при этом первое гибридное поколение обладало высокой фертильностью, тогда как для более поздних поколений характерна массовая стерильность.

Многие ученые изучали всхожесть семян у межвидовых и межсортовых гибридов, а также у новых культивируемых сортов. Высокую гибель семян наблюдали у гибридов между двумя тетраплоидными видами (*G. hirsutum*, *G. barbadense*): всхожесть гибридных семян F₁ (108-Ф × 8704-И) была очень низкой (24.0 %), а семян F₂ – сниженной до 51.3 % (Абдуллаев, 1974). Учет гибели загнивших и непроросших гибридных семян в процессе прорастания в термостате показал, что всхожесть зависит не только от сортовых и комбинационных особенностей гибридизации, но и от близкородственности и отдаленности этих форм, а также от зрелости семян.

В нашем исследовании пять беккроссных гибридов BC₂F₁ (с участием Мо16, Мо38, Мо60, Мо17, Тело21) характеризовались существенным уменьшением скрещиваемости, причем линейное снижение в трех беккроссных поколениях с участием линий Мо16, Мо38 и Мо60 с моносомией по хромосомам 2 и 4 наблюдалось на протяжении трех гибридных поколений: гибриды F₁ и BC₁F₁ были изучены ранее (Sanamyan et al., 2022), а гибриды BC₂F₁ – в настоящем исследовании. У большинства беккроссных гибридов BC₃F₁ выявлено значительное снижение скрещиваемости. В целом анализ скрещиваемости анеуплоидных гибридных линий на протяжении четырех гибридных поколений продемонстрировал линейное уменьшение скрещиваемости у двух гибридов с участием линий Мо60 и Тело21 с моносомией по хромосоме 4 и плечу хромосомы 11 соответственно. Остальные варианты с участием девяти моносомных линий (Мо58, Мо59, Мо75, Мо34, Мо92, Мо27, Мо94, Мо48 и Мо17) по хромосомам 4, 6, 7, 12, 18 и 22 соответственно характеризовались чередованием показателей скрещиваемости между гибридами разных поколений. Такое снижение скрещиваемости объяснялось межвидовой гибридной, анеуплоидным состоянием скрещиваемых форм, при котором как материнские, так и отцовские растения имели соответствующее от-

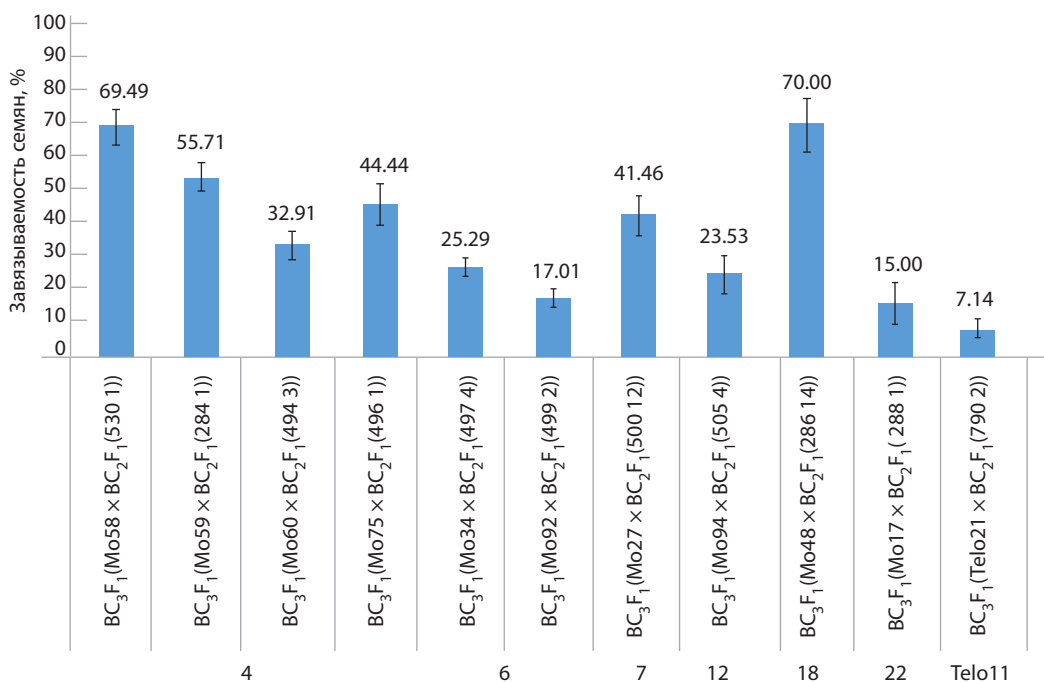


Рис. 5. Завязываемость гибридных семян BC₃F₁, полученных от скрещиваний моносомных и монотелосомной линий хлопчатника *G. hirsutum* с беккроссными анеуплоидными гибридами BC₂F₁ (Мо × BC₁F₁ (Мо × F₁ (Мо × Pima 3-79))) или BC₂F₁ (Тело × BC₁F₁ (Тело × F₁ (Тело × Pima 3-79)))

Планки погрешности соответствуют ошибке выборочной доли

Fig. 5. Setting of BC₃F₁ hybrid seeds obtained from crosses of monosomic and monotelosome lines of cotton with the backcross aneuploidy hybrids BC₂F₁ (Мо × BC₁F₁ (Мо × F₁ (Мо × Pima 3-79))) or BC₂F₁ (Тело × BC₁F₁ (Тело × F₁ (Тело × Pima 3-79)))

Error bars correspond to sample fraction error

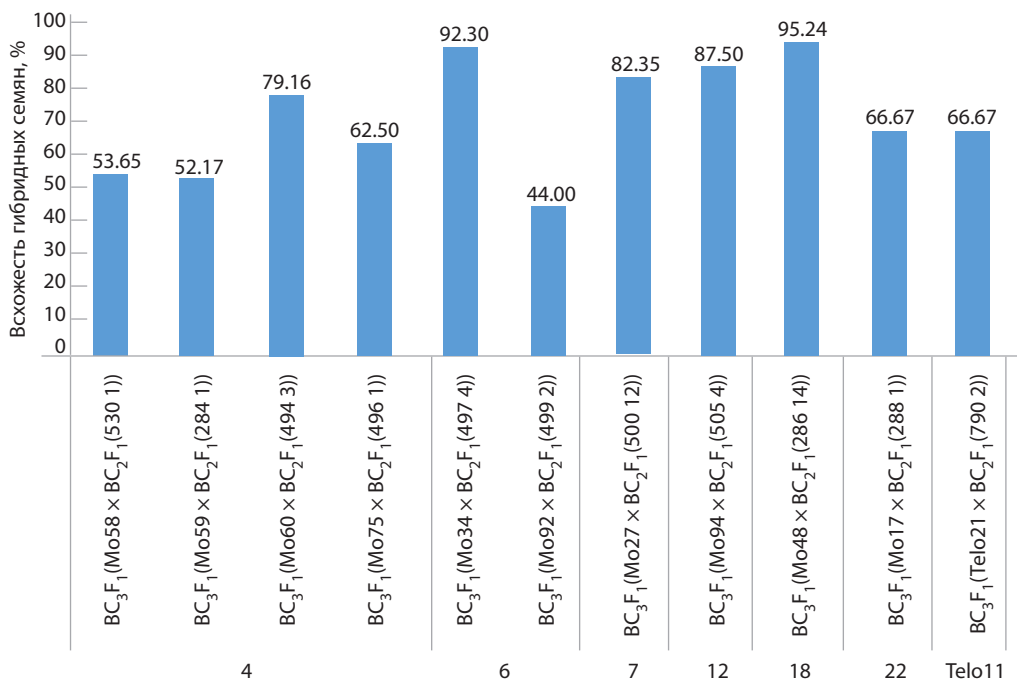


Рис. 6. Всхожесть гибридных семян BC₃F₁, полученных от скрещиваний моносомных и монотелосомной линий хлопчатника *G. hirsutum* с беккроссными анеуплоидными гибридами BC₂F₁ (Мо × BC₁F₁ (Мо × F₁ (Мо × Pima 3-79))) или BC₂F₁ (Тело × BC₁F₁ (Тело × F₁ (Тело × Pima 3-79)))

Fig. 6. Germination of BC₃F₁ hybrid seeds obtained from crosses of monosomic and monotelosome lines of cotton with the backcross aneuploidy hybrids BC₂F₁ (Мо × BC₁F₁ (Мо × F₁ (Мо × Pima 3-79))) or BC₂F₁ (Тело × BC₁F₁ (Тело × F₁ (Тело × Pima 3-79)))

сутствие хромосом или отдельных плеч хромосом. Другой сложностью гибридизации были разные сроки периодов цветения у исходных линий и гибридов соответствующих поколений при проведении беккроссирования, а также небольшое число бутонов и цветков у растений.

Изучение завязываемости гибридных семян показало ее снижение в девяти вариантах беккроссных скрещиваний BC₂F₁, тогда как анализ завязываемости гибридных семян BC₃F₁, наоборот, продемонстрировал ее увеличение у большинства гибридов. Исключением стали гибриды BC₃F₁, полученные с моносомиками Мо27 и Мо17 по хромосомам 7 и 22 соответственно и линией Тело21, моносомной по телоцентрику хромосомы 11. В целом изучение завязываемости гибридных семян у анеуплоидных гибридных растений на протяжении четырех гибридных поколений указывало на линейное снижение в двух изученных вариантах скрещиваний с участием линий Мо17 и Тело21. Остальные варианты с участием девяти моносомных линий (Мо58, Мо59, Мо60, Мо75, Мо34, Мо92, Мо27, Мо94 и Мо48) по хромосомам 4, 6, 7, 12 и 18 соответственно характеризовались чередованием показателей завязываемости гибридных семян в разных поколениях беккроссов. Причины значительных различий в завязываемости семян в беккроссных вариантах наряду с их межвидовой гибридностью обусловлены низкой завязываемостью семян у многих исходных анеуплоидных линий вследствие большого количества нуллисомных гамет, результатом чего являлись неоплодотворенные яйцеклетки и формирование улюков. Известно, что редукция в размере и числе семян, а также искривления коробочек из-за присутствия большого числа неоплодотворенных яйцеклеток служили маркерами аббераций хромосом у хлопчатника (Brown, Endrizzi, 1964).

Кроме того, завязываемость плодов снижается при воздействии на хлопчатник Upland (*G. hirsutum*) и Pima (*G. barbadense*) дневных температур выше 30 °C в промежутке 13 ч, когда бутоны и молодые коробочки могут отмирать (Reddy et al., 1992a). Показано, что высокая дневная температура приводит к снижению жизнеспособности пыльцы и прорастанию пыльцы на рыльце, что в свою очередь отрицательно влияет на завязываемость семян (Reddy et al., 1992a, b; Pettigrew, 2008; Soliz et al., 2008). Высокие температуры, вызывающие нарушение жизнеспособности и функционирования пыльцы, также влияют на урожайность хлопчатника (Kakani et al., 2005). Оказалось, что жизнеспособность пыльцы, изученная при окрашивании ТТС (2 % 2,3,5-трифенилтетразолий хлорид), характеризовалась снижением и колебалась от 33 % у линии CS-T04 до 52 % у CS-BO7, в среднем составив 45 % (Reddy et al., 2020). Тогда как прорастание пыльцы на искусственной питательной среде у замещенных линий хлопчатника при 30 °C было примерно на 20 % ниже, чем у исходной линии ТМ-1. Лишь одна линия CS-T15sh, которая включает замещение короткого плеча хромосомы 15 от вида *G. tomentosum*, выделялась высоким прорастанием пыльцы (49 %) при 30 °C, аналогично ТМ-1, что неудивительно, поскольку донорный вид этой линии, *G. tomentosum*, является самым жаростойким в роде *Gossypium* L.

К сожалению, всеобщее потепление внесло свой вклад в снижение скрещиваемости и завязываемости семян у изученных нами гибридов хлопчатника, поскольку, по последним данным, среднесуточная температура в Ташкенте за последние годы выросла в среднем на 2–3 градуса: в 2022 г. в июле днем было +37... +42 °C, тогда как вечером +23... +27 °C¹. Это могло служить еще одной причиной сильного опадения завязей и коробочек у беккроссных гибридов хлопчатника.

В нашей работе всхожесть семян BC₂F₁ характеризовалась небольшим увеличением в семи вариантах скрещиваний (с участием линий Мо16, Мо60, Мо75, Мо92, Мо27, Мо17 и Тело21) по сравнению с гибридами BC₁F₁. Остальные шесть вариантов скрещиваний выделялись снижением всхожести, причем у двух гибридов (с участием Мо38 и Мо58) выявлено значительное снижение всхожести (вплоть до 30.00 %). Всхожесть семян BC₃F₁ характеризовалась увеличением в шести других вариантах скрещиваний (с участием линий Мо58, Мо75, Мо34, Мо94, Мо48 и Мо17) по сравнению с гибридами BC₂F₁, за исключением двух линий (Мо75 и Мо17), которые отличались увеличением подряд в двух беккроссных поколениях. У остальных пяти вариантов скрещиваний (с участием линий Мо59, Мо60, Мо92, Мо27, Тело21) отмечено снижение всхожести. Сравнительный анализ всхожести гибридных семян четырех поколений гибридов показал нелинейное изменение этого показателя из-за чередования высоких и сниженных величин. С другой стороны, показатели всхожести отдельных вариантов скрещиваний не в полной мере отражают реальную картину всхожести, поскольку среди беккроссных гибридов в одних и тех же вариантах скрещиваний наблюдалась разновременность появления всходов из-за генетических различий между гибридами. Часто семена растений с нуллисомией прорастали намного позже своих дисомных сибсов, что приводило к значительной задержке развития таких растений и общих темпов всхожести.

Таким образом, сравнительный анализ скрещиваемости, завязываемости и всхожести гибридных беккроссных семян в BC₂F₁ и BC₃F₁ позволил установить, что снижение этих показателей при создании замещенных линий вызвано межвидовыми особенностями скрещиваемых форм, а также моносомией по индивидуальным хромосомам у протестированных линий и изначальной генетической обусловленностью такого снижения у исходных моносомиков. Поэтому в большинстве беккроссных вариантов с замещением отдельных хромосом гибридные семьи включали небольшое число потомков, что могло быть одной из причин низкого воспроизводства моносомного состояния в беккроссном потомстве, а также в редких случаях отсутствия генотипов с замещением хромосом вследствие их элиминации у отдельных беккроссных моносомиков. Сокращение всхожести беккроссных семян, как правило, происходило из-за низкой всхожести семян с нуллисомией, а также их позднего прорастания в почве по сравнению с дисомными сибсами, что приводило к значительной задержке общих темпов всхожести. Новые данные о присутствии в одном беккроссном

¹ <https://world-weather.ru/pogoda/uzbekistan/tashkent/july-2022/>

потомстве только моносомиков с элиминацией хромосомы донора *G. barbadense*, а в других – одновременно как моносомиков с замещением хромосомы вида донора, так и моносомиков с элиминацией хромосомы вида донора (Санамьян, 2023, в печати) указывали на необходимость увеличения количества беккресных скрещиваний для получения большего числа беккресных коробочек и семян. Это способствовало бы более эффективному изучению беккресных семей с достаточным числом гибридных растений и высокой всхожестью семян, что крайне необходимо для обнаружения моносомных беккресных генотипов с присутствием хромосом вида донора *G. barbadense*.

Список литературы / References

- Абдуллаев А.А. Эволюция и систематика полиплоидных видов хлопчатника. Ташкент: Фан, 1974.
[Abdullaev A.A. Evolution and taxonomy of polyploid species of cotton. Tashkent: Fan Publ., 1974. (in Russian)]
- Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. (С основами статистической обработки результатов исследований). М.: Агропромиздат, 1985.
[Dospikhov B.A. Methodology of field experience (with the basics of statistical processing of research results. Moscow: Agropromizdat Publ., 1985. (in Russian)]
- Мауер Ф.М. Происхождение и систематика хлопчатника. Хлопчатник. Т. 1. Ташкент: Фан, 1954.
[Mauer F.M. Origin and taxonomy of cotton. Cotton. Vol. 1. Tashkent: Fan Publ., 1954. (in Russian)]
- Поротников И.В., Антонова О.Ю., Митрофанова О.П. Молекулярные маркеры в генетическом анализе скрещиваемости мягкой пшеницы с рожью. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2020;24(6):557-567. DOI 10.18699/VJ20.649.
[Porotnikov I.V., Antonova O.Yu., Mitrofanova O.P. Molecular markers in the genetic analysis of crossability of bread wheat with rye. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2020;24(6):557-567. DOI 10.18699/VJ20.649. (in Russian)]
- Поротников И.В., Пюккенен В.П., Антонова О.Ю., Митрофанова О.П. Эффективность молекулярных маркеров гена-супрессора *SKr*, определяющего скрещиваемость мягкой пшеницы с рожью посевной. *Экологическая генетика*. 2022;20(3):203-214. DOI 10.17816/ecogen110867.
[Porotnikov I.V., Pyukkenen V.P., Antonova O.Yu., Mitrofanova O.P. The efficiency of molecular markers of the *SKr* suppressor gene that determines the crossability of common wheat with rye. *Ecological Genetics*. 2022;20(3):203-214. DOI 10.17816/ecogen110867. (in Russian)]
- Санамьян М.Ф., Бобохужаев Ш.У., Макамов А.Х., Ачилов С.Г., Абдурахмонов И.Ю. Создание новой серии анеуплоидных линий у хлопчатника (*Gossypium hirsutum* L.) с идентификацией нехваток отдельных хромосом с помощью транслокационных и SSR-маркеров. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2016;20(5):643-652. DOI 10.18699/VJ16.186.
[Sanamyayn M.F., Bobokhujayev Sh.U., Makamov A.X., Achilov S.G., Abdurakhmonov I.Y. The creation of new aneuploid lines of the cotton (*Gossypium hirsutum* L.) with identification of chromosomes by translocation and SSR markers. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2016;20(5):643-652. DOI 10.18699/VJ16.186. (in Russian)]
- Санамьян М.Ф. Цитогенетика мутаций, транслокаций, моносомии и межвидовой гибридизации у хлопчатника. Ташкент: Изд-во «Университет», 2020.
[Sanamyayn M.F. Cytogenetics of mutations, translocations, monosomy and interspecific hybridization in cotton. Tashkent: University Publ., 2020. (in Russian)]
- Щапова А.И., Кравцова Л.А. Цитогенетика пшенично-ржаных гибридов. Новосибирск: Наука, 1990.
[Shchapova A.I., Kravtsova L.A. Cytogenetics of wheat-rye hybrids. Novosibirsk: Nauka Publ., 1990. (in Russian)]
- Beasley J.O., Brown M.S. Asynaptic *Gossypium* plants and their polyploids. *J. Agric. Res.* 1942;65(9):421-427.

- Bowman D.T. Public cotton breeders – do we need them? *J. Cotton Sci.* 1999;3(3):139-152.
- Bowman D.T., Gutiérrez O.A., Percy R.G., Calhoun D.S., May O.L. Pedigrees of upland and pima cotton cultivars released between 1970 and 2005. *Miss. Agric. For. Exp. Station. Tech. Bull.* 2006;1155(57):1-57.
- Brown M.S., Endrizzi J.E. The origin, fertility and transmission of monosomics in *Gossypium*. *Am. J. Botan.* 1964;51(1):108-115. DOI 10.2307/2440070.
- Endrizzi J.E., Turcotte E.L., Kohel R.J. Genetics, cytology and evolution of *Gossypium*. *Adv. Genet.* 1985;23:271-375. DOI 10.1016/S0065-2660(08)60515-5.
- Fang D.D., Thyssen G.N., Wang M., Jenkins J.N., McCarty J.C., Jones D.C. Genomic confirmation of *Gossypium barbadense* introgression into *G. hirsutum* and a subsequent MAGIC population. *Mol. Genet. Genomics*. 2023;298(1):143-152. DOI 10.1007/s00438-022-01974-3.
- Gutiérrez O.A., Stelly D.M., Saha S., Jenkins J.N., McCarty J.C., Raska D.A., Scheffler B.E. Integrative placement and orientation of non-redundant SSR loci in cotton linkage groups by deficiency analysis. *Mol. Breeding*. 2009;23:693-707. DOI 10.1007/s11032-009-9266-y.
- Hulse-Kemp A.M., Lemm J., Plieske J., Ashrafi H., Buyyarapu R., Fang D.D., Frelichowski J., Giband M., Hague S., Hinze L.L., Kochan K.J., Riggs P.K., Scheffler J.A., Udall J.A., Ulloa M., Wang S.S., Zhu Q.H., Bag S.K., Bhardwaj A., Burke J.J., Byers R.L., Claverie M., Gore M.A., Harker D.B., Islam M.S., Jenkins J.N., Jones D.C., Lacape J.M., Llewellyn D.J., Percy R.G., Pepper A.E., Poland J.A., Mohan Rai K., Sawant S.V., Singh S.K., Spriggs A., Taylor J.M., Wang F., Yourstone S.M., Zheng X., Lawley C.T., Ganai M.W., Van Deynze A., Wilson I.W., Stelly D.M. Development of a 63K SNP array for cotton and high-density mapping of intraspecific and interspecific populations of *Gossypium* spp. *G3 (Bethesda)*. 2015;5(6):1187-209. DOI 10.1534/g3.115.018416.
- Hutchinson J.B., Silow R.A., Stephens S.G. The Evolution of *Gossypium* and the Differentiation of the Cultivated Cottons. London: Oxford University Press, 1947.
- Jenkins J.N., McCarty J.C. Jr., Campbell B.T., Hayes R.W., Wu J., Saha S., Stelly D.M. Genotypic comparisons of chromosomes 01, 04, and 18 from three tetraploid species of *Gossypium* in top crosses with five elite cultivars of *G. hirsutum* L. *Euphytica*. 2017;213:107. DOI 10.1007/s10681-017-1895-3.
- Jenkins J.N., Wu J., McCarty J.C., Saha S., Gutiérrez O., Hayes R., Stelly D.M. Genetic effects of thirteen *Gossypium barbadense* L. chromosome substitution lines in top crosses with upland cotton cultivars: I. Yield and yield components. *Crop Sci.* 2006;46(3):1169-1178. DOI 10.2135/cropsci2005.08-0269.
- Jenkins J.N., McCarty J.C., Wu J., Saha S., Gutiérrez O., Hayes R., Stelly D.M. Genetic effects of thirteen *Gossypium barbadense* L. chromosome substitution lines in top crosses with upland cotton cultivars: II. Fiber quality traits. *Crop Sci.* 2007;47(2):561-572. DOI 10.2135/cropsci2006.06.0396.
- Kakani V.G., Reddy K.R., Koti S., Wallace T., Prasad P.V., Reddy V.R., Zhao D. Differences in *in vitro* pollen germination and pollen tube growth of cotton cultivars in response to high temperature. *Ann. Bot.* 2005;96(1):59-67. DOI 10.1093/aob/mci149.
- Pettigrew W. The effect of higher temperatures on cotton lint yield production and fiber quality. *Crop Sci.* 2008;48(1):278-285. DOI 10.2135/cropsci2007.05.0261.
- Reddy K.R., Bheemanahalli R., Saha S., Singh K., Lokhande S.B., Gajayake B., Read J.J., Jenkins J.N., Raska D.A., De Santiago L.M., Hulse-Kemp A.M., Vaughn R.N., Stelly D.M. High-temperature and drought-resilience traits among interspecific chromosome substitution lines for genetic improvement of upland cotton. *Plants*. 2020;9(12):1747. DOI 10.3390/plants9121747.
- Reddy K.R., Hodges H.F., Reddy V.R. Temperature effects on cotton fruit retention. *Agron. J.* 1992a;84(1):26-30. DOI 10.2134/agronj1992.00021962008400010006x.
- Reddy K.R., Reddy V.R., Hodges H.F. Temperature effects on early season cotton growth and development. *Agron. J.* 1992b;84(2):229-237. DOI 10.2134/agronj1992.00021962008400020021x.
- Reinisch A.J., Dong J.M., Brubaker C.L., Stelly D.M., Wendel J.F., Paterson A.H. A detailed RFLP map of cotton, *Gossypium hirsutum* x *Gossypium barbadense*: chromosome organization and evolution in a disomic polyploid genome. *Genetics*. 1994;138(3):829-847. DOI 10.1093/genetics/138.3.829.

- Saha S., Bellaloui N., Jenkins J.N., McCarty J.C., Stelly D.M. Effect of chromosome substitutions from *Gossypium barbadense* L., *G. tomentosum* Nutt. ex Seem and *G. mustelinum* Watt into *G. hirsutum* L. on cotton seed protein and oil content. *Euphytica*. 2020;216:118. DOI 10.1007/s10681-020-02644-4.
- Saha S., Jenkins J.N., Wu J., McCarty J.C., Gutiérrez O., Percy R.G., Cantrell R. G., Stelly D.M. Effects of chromosome-specific introgression in upland cotton on fiber and agronomic traits. *Genetics*. 2006b;172(3):1927-1938. DOI 10.1534/genetics.105.053371.
- Saha S., Jenkins J.N., Wu J., McCarty J.C., Stelly D.M. Genetic analysis of agronomic and fibre traits using four interspecific chromosome substitution lines in cotton. *Plant Breed.* 2008;127(6):612-618. DOI 10.1111/j.1439-0523.2008.01532.x.
- Saha S., Raska D.A., Stelly D.M. Upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) × Hawaiian cotton (*G. tomentosum* Nutt. ex Seem.) F₁ hybrid hypoaneuploid chromosome substitution series. *J. Cotton Sci.* 2006a;10(4):263-272.
- Saha S., Raska D.A., Stelly D.M., Manchali Sh., Gutiérrez O.A. Hypoaneuploid chromosome substitution F₁ hybrids of *Gossypium hirsutum* L. × *G. mustelinum* Miers ex Watt. *J. Cotton Sci.* 2013b;17:102-114.
- Saha S., Stelly D.M., Makamov A.K., Ayubov M.S., Raska D., Gutiérrez O.A., Shivapriya M., Jenkins J.N., Dewayne D., Abdurakhmonov I.Y. Molecular confirmation of *Gossypium hirsutum* chromosome substitution lines. *Euphytica*. 2015;205:459-473. DOI 10.1007/s10681-015-1407-2.
- Saha S., Stelly D.M., Raska D.A., Wu J., Jenkins J.N., McCarty J.C., Makamov A., Gotmare V., Abdurakhmonov I.Y., Campbell B.T. Chromosome substitution lines: concept, development and utilization in the genetic improvement of upland cotton. In: Abdurakhmonov I.Y. (Ed.). *Plant Breeding*. InTech, 2012;107-128. DOI 10.5772/35585.
- Saha S., Wu J., Jenkins J.N., McCarty J.C. Jr., Gutiérrez O.A., Stelly D.M., Percy R.G., Raska D.A. Effect of chromosome substitutions from *Gossypium barbadense* L. 3-79 into *G. hirsutum* L. TM-1 on agronomic and fiber traits. *J. Cotton Sci.* 2004;8(3):162-169.
- Saha S., Wu J., Jenkins J.N., McCarty J.C., Hayes R., Stelly D.M. Delineation of interspecific epistasis on fiber quality traits in *Gossypium hirsutum* by ADAA analysis of intermated *G. barbadense* chromosome substitution lines. *Theor. Appl. Genet.* 2011;122(7):1351-1361. DOI 10.1007/s00122-011-1536-5.
- Saha S., Wu J., Jenkins J.N., McCarty J.C., Hayes R., Stelly D.M. Genetic dissection of chromosome substitution lines of cotton to discover novel *Gossypium barbadense* L. alleles for improvement of agronomic traits. *Theor. Appl. Genet.* 2010;120(6):1193-1205. DOI 10.1007/s00122-009-1247-3.
- Saha S., Wu J., Jenkins J.N., McCarty J.C., Stelly D.M. Interspecific chromosomal effects on agronomic traits in *Gossypium hirsutum* by AD analysis using intermated *G. barbadense* chromosome substitution lines. *Theor. Appl. Genet.* 2013a;126:109-117. DOI 10.1007/s00122-012-1965-9.
- Sanamyan M.F., Bobokhujayev Sh.U., Abdurakarimov Sh.S., Makamov Kh.A., Silkova O.G. Features of chromosome introgression from *Gossypium barbadense* L. into *G. hirsutum* L. during the development of alien substitution lines. *Plants*. 2022;11(4):542. DOI 10.3390/plants11040542.
- Sanamyan M.F., Petlyakova J., Rakhmatullina E.M., Sharipova E. Cytogenetic Collection of Uzbekistan. In: Abdurakhmonov I.Y. (Ed.). *World Cotton Germplasm Resources*. InTech, 2014;247-287. DOI 10.5772/58590.
- Soliz L.M.A., Oosterhuis D.M., Coker D.L., Brown R.S. Physiological response of cotton to high night temperature. *Am. J. Sci. Biotechnol.* 2008;2:63-68.
- Stelly D.M., Saha S., Raska D.A., Jenkins J.N., McCarty J.C. Jr., Gutiérrez O.A. Registration of 17 Upland (*Gossypium hirsutum*) cotton germplasm lines disomic for different *G. barbadense* chromosome or arm substitutions. *Crop Sci.* 2005;45:2663-2665. DOI 10.2135/cropsci2004.0642.
- Ulloa M., Wang C., Saha S., Hutmacher R.B., Stelly D.M., Jenkins J.N., Burke J., Roberts P.A. Analysis of root-knot nematode and fusarium wilt disease resistance in cotton (*Gossypium* spp.) using chromosome substitution lines from two alien species. *Genetica*. 2016;144(2):167-179. DOI 10.1007/s10709-016-9887-0.
- Wendel J.F. New World tetraploid cottons contain Old World cytoplasm. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1989;86(11):4132-4136. DOI 10.1073/pnas.86.11.413.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 09.02.2023. После доработки 29.03.2023. Принята к публикации 31.03.2023.

 pismavavilov.ru

DOI 10.18699/LettersVJ-2023-9-09

Обзор

Стадии роста и развития пшеницы и их значение в формировании элементов продуктивности

Т.Т. Ефремова , Е.В. Чуманова

Аннотация: Представлен обзор шкал для оценки роста и развития злаков. Выделены классификации, посвященные оценке внешнего развития растений (фенологические шкалы Фикеса, Задокса, Хауна, BBCH) и развития апикальной меристемы. Кроме того, проанализированы двенадцать этапов органогенеза, а также указан их вклад в формирование элементов продуктивности. Приведено сравнение шкал роста и развития пшеницы, показано, как они соотносятся между собой.

Ключевые слова: пшеница; рост и развитие злаков; фенологические фазы; шкала Фикеса (Feekes); шкала Задокса (Zadoks); шкала Хауна (Haun); шкала BBCH; этапы органогенеза; развитие апекса; морфогенез пестика; элементы продуктивности.

Для цитирования: Ефремова Т.Т., Чуманова Е.В. Стадии роста и развития пшеницы и их значение в формировании элементов продуктивности. *Письма в Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2023;9(2):54-80. DOI 10.18699/LettersVJ-2023-9-09

Благодарности: Работа поддержана грантом РФФИ № 22-26-0085.

Review

Stages of growth and development of wheat and their importance in the formation of productivity elements

T.T. Efremova , E.V. Chumanova

Abstract: An overview of scales for assessing the growth and development of cereals is presented. Scales are highlighted, that describe the external development of plants (the Fickes, Zadoks, Haun, BBCH phenological scales) and those that describe the development of the apical meristem. An overview of the twelve stages of organogenesis is presented separately, and the contribution of these stages to the formation of productivity elements is also indicated. A comparison of wheat growth and development scales is given and how they relate to each other is shown.

Key words: wheat; growth and development of cereals; phenological phases; Feekes scale; Haun scale; Zadoks scale; BBCH scale; stages of organogenesis; development of the apex; pistil morphogenesis; grain yield.

For citation: Efremova T.T., Chumanova E.V. Stages of growth and development of wheat and their importance in the formation of productivity elements. *Pisma v Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Letters to Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2023;9(2):54-80. DOI 10.18699/LettersVJ-2023-9-09 (in Russian)

Acknowledgments: The work is supported by the Russian Science Foundation, grant No. 22-26-0085.

Введение

Еще в XIX в. выделены фенологические фазы роста и развития растений. Изучение сроков наступления и продолжительность межфазных периодов у различных видов растений в разных географических зонах служит предметом особой науки – фенологии. Определение точного наступления фаз развития возможно благодаря постоянным многолетним фенологическим наблюдениям. В дальнейшем на основе этих наблюдений составляют фенологиче-

ские карты сезонного развития растений в разных географических зонах.

Полный цикл развития злаковых культур состоит из нескольких фенологических фаз и этапов органогенеза, каждый из которых характеризуется определенными внешними морфологическими признаками и образованием новых органов (Биология..., 1982). Последовательность фенологических фаз от всходов до колошения и цветения закономерна и необратима. Рост и развитие злаков не происходит с

фиксированной скоростью, а продолжительность межфазных периодов динамично меняется в течение всего жизненного цикла растений. Кроме того, продолжительность межфазных периодов претерпевает изменения под воздействием таких факторов окружающей среды, как температура, осадки, интенсивность и продолжительность освещения (Amir, Sinclair, 1991; Евтушенко, Чекуров, 2000, 2008; Файт, Стельмах, 2004; Laurie et al., 2004; Trethowan et al., 2006; Whitechurch et al., 2007; Prasad et al., 2008, 2014; Leather, 2010; Farooq et al., 2011, 2017; Thomas, 2014; Kiss et al., 2017; Hyles et al., 2020; Ullah S. et al., 2020; Kronenberg et al., 2021; Ochagavía et al., 2022). С другой стороны, порядок наступления фенофаз генетически обусловлен и зависит в основном от комбинации генов, определяющих реакцию на яровизацию и фотопериод (Slafer, Rawson, 1994; Стельмах, Мартынюк, 1998; Slafer, Whitechurch, 2001; Appendino, Slafer, 2003; Trevaskis et al., 2003; Laurie et al., 2004; Файт и др. 2006; Whitechurch et al., 2007; Fischer, 2011; Емцева и др., 2013; Sanna et al., 2014; Rademacher, 2015; Киселёва, Салина, 2018; Чуманова и др., 2020; Hyles et al., 2020).

Комплексный подход к познанию процесса роста и развития растений и их взаимосвязи выступает важным элементом эффективных и экономичных систем управления производством пшеницы. Воздействие заморозков, жары, засухи, болезней, насекомых и сорняков можно более точно предсказать, имея четкое представление о взаимосвязи стадий роста и реакции растений на стресс (Сандухадзе и др., 2019; Hyles et al., 2020; Khadka et al., 2020; Ullah A. et al., 2021). Оптимальные сроки внесения удобрений (Гамзикова, 1994; Triboi et al., 2003; Garrido-Lestache et al., 2005; Fuertes-Mendizábal et al., 2010; Schulz et al., 2015; Xue et al., 2016a, b; Wu et al., 2022), гербицидов, инсектицидов и фунгицидов (Tottman, 1977, 1982; Martin et al., 1990; Robinson et al., 2015), регуляторов роста растений (Kolbe, 1974, 1984; Кобыльский и др., 2001; Чекуров, Сергеева, 2003; Романова, Маслов, 2006; Вильдфлуш, 2011; Rademacher, 2015), полива (Cabeza et al., 1993; Angus, Moncur, 1977; Сандухадзе и др., 2019; Rawson, Macpherson, 2000) также лучше определять по стадии роста растений, а не календарной дате.

Распространенный термин «шкала роста» (growth scales) обозначает не все методы, используемые для описания жизненного цикла злаков. Строго говоря, рост растений – это накопление сухого вещества. Развитие растений представляет собой сложную серию событий, которую трудно определить и описать единым образом. Основные методы определения стадий и периодов роста и развития сельскохозяйственных культур подразделяют на те, которые основаны на оценке внешней морфологии растений, видимые невооруженным глазом, и те, которые требуют препарирования верхушки побега (апекса) и развивающегося соцветия под микроскопом. Поскольку развитие апекса и соцветия определить сложнее, чем внешнюю морфологию, именно последнюю чаще используют для описания стадий развития злаков.

В XX в. предпринято много попыток разработки точных и легко применяемых методов для описания важных периодов и стадий развития отдельных видов растений (Troitzky, 1925; Feekes, 1941; Fleckinger, 1948; Haun, 1973; Zadoks et al., 1974; Barber et al., 2015). Ученых всегда интересовали физио-

логические основы, отвечающие за контроль фенологических фаз растений (Mott, McComb, 1975; Suárez-López et al., 2001; Yanovsky, Kay, 2002); анализ и прогнозирование сроков этих видимых событий доминировали в фенологических исследованиях в прошлом (Lieth, 1974; Abu-Asab et al., 2001; Peñuelas et al., 2001, 2002). Традиция записи фенологических событий и наблюдений за многими культурными и декоративными растениями имела место еще в древние времена.

В литературе представлено несколько известных описаний стадий роста для большинства сельскохозяйственных культур. Так A. Landes и J.R. Porter (1989) сравнили 23 шкалы для зерновых культур. Однако при описании одних и тех же стадий роста у одной культуры часто используют разные цифровые коды. Формат кодов различается: в написании могут использовать буквы (Keller, Baggolini, 1954), две или три цифры (Zadoks et al., 1974; Knott, 1987), иногда добавляют знаки препинания (Feekes, 1941; Sylvester-Bradley, 1985). Разнообразие кодов может запутать исследователей, работающих с несколькими культурами, кроме того, создает проблемы при хранении информации в современных компьютерных системах. Для сельскохозяйственных культур без кодов необходимо сохранять нестандартное текстовое описание стадий роста. Если бы описание стадий роста было стандартизировано, оно бы имело одинаковое значение на любом языке. Затем классификацию можно было перевести в электронный вид для поиска стандартного описания на компьютере.

Помимо необходимости единообразного описания стадий роста и развития в научных работах существует потребность в цифровизации рабочих процессов в сельском хозяйстве, чтобы сделать более оптимальной систему принятия решений по вопросам подбора средств защиты растений, сроков внесения удобрений и гербицидов и др. Кроме того, современное развитие агрометеорологии тесным образом связано с изучением метеорологических условий и их взаимодействия с процессами роста и развития сельскохозяйственных культур.

Цель данного обзора заключается в сравнительном анализе ряда шкал роста зерновых культур, принятых во всем мире, а также систем/или шкал, описывающих развитие апекса и соцветия.

История описания стадий роста и развития растений

На протяжении нескольких десятилетий XX в. для описания стадий развития отдельных видов растений созданы и предложены несколько шкал. N.N. Troitzky исследовал связь между появлением яблонного долгоносика-цветоеда (*Anthonomus pomorum* L.) и фенологическим развитием цветочных бутонов (Troitzky, 1925; цит. по: Meier et al., 2009). Ученый разделил формирование почек яблони на три стадии и двенадцать фаз. Предложенная шкала начального развития для древесных плодовых растений также использована в работах M. Klemm (1937) и A. Soenen (1951, 1952) по защите растений, а также J. Fleckinger (1948) для описания стадий фенологического развития яблони и груши. Он присвоил заглавные буквы от A до I основным фазам и обозначил их цифрами от 1 до 4. Эту классификацию широко использовали до 1994 г.

Таблица 1. Последовательность фаз развития злаковых растений по А.И. Руденко**Table 1.** Phases of cereal plant development by A.I. Rudenko

Фаза	Признаки фаз развития
Всходы	На поверхности почвы показались первые развернувшиеся на конце coleoptilya листочки
Развитие третьего листа	Из пазухи развернувшегося ранее 2-го листа показалась верхушка третьего листа. Длина 3-го листа условно принимается в 1.2 см
Кущение (образование боковых побегов)	Из пазухи влагалищного листа первого бокового побега появилась верхушка еще свернутого в трубочку листа (длина листа условно принимается в 1 см)
Выход в трубку	У главного побега начинаются рост стебля (т. е. начало удлинения междоузлий зачаточного стебля, находящегося в центре основания главного побега) и образование соломины с обозначением стеблевого узла. При выходе в трубку отмечают тот момент, когда у главного побега на расстоянии от 1.5 до 2 см от поверхности почвы появился первый стеблевой узел
Колошение	Из влагалища верхнего листа показалась половина колоса или вершина (три-четыре колоска)
Цветение	В средней части колоса (пшеница) происходит раскрытие цветковых чешуй отдельных цветков, и снаружи колосков появляются вполне созревшие пыльники, выбрасывающие пыльцу
Молочная спелость	Зерно в средней части колоса достигло в длину нормальных размеров спелого зерна (зерно в это время в длину занимает всю внутреннюю часть между цветковыми чешуями), а содержимое зерна у пшеницы похоже на хлопья свернувшегося молока. Зародыш зерна остается еще мягким, но уже настолько развился, что обладает способностью к прорастанию
Желтая или восковая спелость	Зерно в средней части колоса целиком пожелтело, мнется как воск и легко режется ногтем. При сгибании зерно дает изгиб и в конце концов разламывается. Содержимое зерна в фазе восковой спелости трудно выдавливается из оболочки, напоминая крутое подсохшее тесто, из которого можно катать шарики. В большинстве случаев зерно теряет зеленую окраску и желтеет сначала в верхней части и со спинной стороны, а потом уже с брюшной стороны и в нижней части. В фазе восковой спелости количество влаги в зерне уменьшается до 0–25 %
Полная спелость	Ассимиляция полностью прекращается, растение окончательно засыхает, а зерна теряют лишнюю воду (до 10–14 %) и отвердевают

Рост пшеницы и других злаков в России впервые начал исследовать В.А. Благовещенский (1927), а за ним и другие ученые (Чижов, 1946; Иванов, 1948). А.И. Руденко (1950) представил единую систему обозначения фенофаз с указанием их морфологических признаков (табл. 1). По результатам исследования и обобщения при фенологических наблюдениях над зерновыми злаками (рожь, пшеница, овес, ячмень, просо и рис) им предложена обязательная фиксация девяти фаз: всходы, 2–3-й лист, кущение, выход в трубку, колошение или выметывание, цветение, молочная, восковая и полная спелость. Однако еще А.А. Сапегин (1883–1946) первым обратил внимание на морфологические признаки стадий онтогенеза хлебных злаков, которые обозначил как: 1 – листостебельная, 2 – колосковая, 3 – цветковая, 4 – половая, 5 – зародышевая или семенная (Заблуда, 1974).

Шкалы показателей роста, определяющих развитие зерновых культур

Для цифрового обозначения стадий роста и развития разработано несколько шкал, в которых ключевым стадиям роста присвоена цифра. Среди них наиболее часто используют шкалы Фикеса, Задокса, Хауна и классификацию по системе ВВСН (Каленская и др., 2018; Fowler, 2018; международная система ВВСН¹). Цель применения данных шкал состоит не

только в необходимости стандартного описания стадий роста, но также в возможности использования сокращенного цифрового кода вместо длинных описаний. К недостаткам заявленных классификаций относится описание аналогичных или одной и той же стадий у разных культур с помощью разных кодов. Как правило, неспециалисту трудно сопоставить одну шкалу с другой.

Шкала Фикеса (Feekes scale)

На основе шкалы голландского агронома Виллема Фикеса (1907–1979) в 1941 г. опубликован первый цифровой код для зерновых культур (десятичный) (Feekes, 1941; Large, 1954). Выделены 11 основных фаз, каждая из которых делится на 10 подфаз (от 0 до 9) с указанием их морфологических или метрических признаков – начиная с появления всходов и заканчивая созреванием зерна (табл. 2). В основу классификации Европейского сообщества по селекции растений (EUCARPIA) также положена шкала Feekes. Аналогичные шкалы используют в США (Simmons et al., 1985) и Канаде (Fowler, 2018).

Шкала Задокса (Zadoks scale)

Новый этап в изучении роста и развития зерновых культур, описывающих фенологические стадии растений, произошел после публикации J.C. Zadoks, T.T. Chang, C.F. Konzak (1974). Авторы разработали скорректированную и уточненную шкалу для зерновых и риса, которая до сих пор распространена и служит официальным стандартом для многих международных организаций (табл. 3). Шкала Zadoks

¹ Цит. по: Что такое «ВВСН» и для чего необходима международная система определения фенологических фаз растений? Доступно: <https://agrostory.com/info-centre/knowledge-lab/chto-takoe-bbch-i-dlya-chego-neobkhodima-mezhdunarodnaya-sistema-opredeleniya-fenologicheskikh-faz-r/>

Таблица 2. Шкала стадий развития злаков по Feekes
Table 2. Scale of developmental stages of cereals according to Feekes

Прорастание	1	Один побег, первый лист пробивается через колеоптиле
	2	Начало кущения: главный побег и один побег кущения
Кущение	3	Сформированы побеги кущения, листья часто закручены по спирали. Главный побег и шесть побегов кущения
	4	Влагалища листьев удлиняются, начинает вытягиваться псевдостебель из листовых влагалищ
	5	Листовые влагалища полностью удлиняются, образуя сильно прямостоячий псевдостебель
Рост стебля	6	Первый узел стебля виден у основания побега
	7	Сформирован второй узел стебля, виден предпоследний лист
	8	Флаговый лист виден, но все еще свернут
	9	Видна лигула флагового листа
Колошение	10	Влагалище флагового листа вздуто
	10.1	Первые колоски колоса хорошо видны
	10.2	Появилась 1/4 часть колоса
	10.3	Появилась 1/2 часть колоса
	10.4	Появилось 3/4 части колоса
Цветение	10.5	Колос появился полностью
	10.5.1	Начало цветения: цветет середина колоса
	10.5.2	Цветет верхушка колоса
	10.5.3	Цветет нижняя часть колоса
Созревание	10.5.4	Цветение завершено, при раздавливании зерновки выделяется жидкость прозрачного цвета
	11.1	Стадия молочной спелости зерна
	11.2	Зерно мучнистое, мягкое, но сухое. Вмятина от ногтя выпрямляется. Стадия – мягкая восковая спелость
	11.3	Зерно твердое; трудно разделить ногтем. Стадия твердого теста
	11.4	Зерно готово к уборке, соломина сухая

Примечание. Здесь и далее в табл. 3 данные приведены из Visual guide winter wheat. Development and growth staging. Доступно: https://coolbean.info/wp-content/uploads/sites/3/2018/04/2018_WheatGrowthStages_FINAL.pdf

охватывает все этапы развития (от посева семян до сбора урожая), обеспечивая систему регистрации стадий развития, которые можно легко наблюдать в поле; кроме того, является двузначной, имеет легко запоминающийся цифровой код и поддается компьютеризации лучше, чем шкала Feekes. Рост пшеницы делится на 10 основных стадий (10, 20, 30 и т. д.), каждая из которых в свою очередь включает 10 вторичных стадий: всходы (0–10), рост проростков (Z 11–19) (рис. 1), кущение (Z 20–29) (рис. 2), удлинение стебля (Z 30–36) (рис. 3), трубкование и появление флагового листа (Z 37–49) (рис. 4, 5), колошение (Z 51–60) (рис. 6, 7), цветение (Z 61–69) (рис. 8, 9), молочная спелость (Z 70–79) (рис. 10), тестообразная спелость (Z 81–89) (рис. 11) и созревание (Z 91–99) (рис. 12, табл. 3).

В дальнейшем D.R. Tottman (1987) представил подробную систему оценки с точными определениями и иллюстрациями. Ученый также подчеркнул преимущества десятичного кода, отметив, что он позволяет составлять подробные описания отдельных растений, прост в освоении и применим практически во всех ситуациях, благодаря чему стал выбором большинства исследователей. Важно отметить, что десятичный код подходит для большинства зерновых культур, что позволяет применять его даже в многовидовых экспериментах. В то же время корреляция между стадиями по десятичному коду и развитием апекса часто невелика.

Шкала Хауна (Haun scale)

Шкала J.R. Haun (1973) отражает стадии развития листьев на главном побеге и использована во многих физиологических исследованиях в связи с развитием представления о филлохроне, как о периоде между последовательным появлением листьев на главном стебле и влиянием факторов окружающей среды на появление листьев, особенно температуры (Klepper et al., 1982; Bauer et al., 1984; Kirby et al., 1985; Cao, Moss, 1989, 1991; Hay, Delecalle, 1989; Wilhelm, McMaster, 1995; Cabeza et al., 1996; Ochagavía et al., 2022). Филлохрон определяет частоту образования листьев у побега. Шкала Haun делится на 16 стадий. Стадия 1 – появление первого листа из колеоптиля, а стадия 16 – затвердевание зерна. По шкале Haun стадии 1–9 представляют полное появление первого, второго, третьего и последующих листьев на главном побеге. Развитие первого листа пшеницы определяется с помощью следующих цифр – 0.0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 и 1.0, где 0.0 – появление листа из колеоптиля, а 1.0 – появление второго листа. После появления флагового листа оставшееся видимое морфологическое развитие складывается из четырех дополнительных цифр: рост флагового листа, трубкование, появление колоса, удлинение стебля. Рост флагового листа определяется с помощью цифр $x.2$, $x.4$, $x.6$, $x.8$ и $1 + x.0$. x означает порядковый номер флагового листа. Эта фаза завершается с появлением первых признаков набухания листового влагалища. Числовое обозна-

Таблица 3. Стадии роста пшеницы по шкалам J.C. Zadoks и W. Feekes
Table 3. Wheat growth stages according to J.C. Zadoks and W. Feekes scales

Прорастание Z 00–09	Z 00	Сухое зерно	Шкала Фикеса		
	Z 01	Начало набухания зерна			
	Z 03	Набухание зерна завершено			
	Z 05	Появление ростка с первичным корешком			
	Z 07	Колеоптиль появился из зерновки			
	Z 09	Лист появился из верхушки coleoptily			
Рост проростка Z 10–19	Z 10	Первый лист пробивается через coleoptily	Кущение	1	
	Z 11	Первый развернутый лист			
	Z 12	2 листа развернуты			
	Z 13	3 листа развернуты			
	Z 14	4 листа развернуты		Лист развернут, когда видны его лигула и кончик следующего листа	
	Z 15	5 листьев развернуты			
	Z 16	6 листьев развернуты			
	Z 17	7 листьев развернуты			
	Z 18	8 листьев развернуты			
	Z 19	9 и более листьев развернуты			
Кущение Z 20–29	Z 20	Только основной побег			
	Z 21	Основной побег и 1 побег кущения (начинается кущение)		2	
	Z 22	Основной побег и 2 побега кущения			
	Z 23	Основной побег и 3 побега кущения			
	Z 24	Основной побег и 4 побега кущения			
	Z 25	Основной побег и 5 побега кущения			
	Z 26	Основной побег и 6 побегов кущения		3	
	Z 27	Основной побег и 7 побегов кущения			
	Z 28	Основной побег и 8 побегов кущения			
	Z 29	Основной побег и 9 и более побегов кущения			
Удлинение побега Z 30–39	Z 30	Побеги прямостоячие, первое междоузлие начинает удлиняться, верхушка колоса не менее чем на 1 см выше узла кущения		4–5	
	Z 31	Обнаруживается 1-й узел		6	
	Z 32	Обнаруживается 2-й узел		7	
	Z 33	Обнаруживается 3-й узел			
	Z 34	Обнаруживается 4-й узел			
	Z 35	Обнаруживается 5-й узел			
	Z 36	Обнаруживается 6-й узел			
	Z 37	Флаговый лист не развернут		8	
	Z 39	Лигула флагового листа хорошо видна, флаговый лист полностью развернут		9	
Трубкавание Z 40–49	Z 40	-----			
	Z 41	Влагалище флагового листа удлиняется			
	Z 45	Влагалище флагового листа чуть заметно вздуто		10	
	Z 47	Раскрытие влагалища флагового листа			
	Z 49	Видны первые ости колоса			
Колошение Z 50–59	Z 50	Виден первый колосок колоса из влагалища листа	Колошение	10.1	
	Z 53	1/4 колоса появилась		10.2	
	Z 55	1/2 колоса появилась		10.3	
	Z 57	3/4 колоса появилось		10.4	
	Z 59	Колос появился полностью		10.5	

Окончание таблицы 3

Цветение Z 60–69	Z 60	Начало цветения	Цветение	10.5.1
	Z 65	Цветет половина колоса		10.5.2
	Z 69	Цветение завершено		10.5.3
Стадия молочной спелости Z 70–79	Z 70	-----	Созревание	10.5.4
	Z 71	При раздавливании зерновки выделяется жидкость прозрачного цвета		
	Z 73	При раздавливании зерновки выделяется жидкость молочного цвета. Зерно зеленое		
	Z 75	Содержание зерновок молочное, однако при раздавливании зерновки выделяется более густая, чем раньше, жидкость молочного цвета. Зерна еще зеленые		
	Z 77	Поздняя молочная спелость		11.1
Стадия тестообразной спелости Z 80–89	Z 80	-----	Созревание	11.2
	Z 83	Эндосперм напоминает тесто. Ранняя тестообразная спелость		
	Z 85	Мягкая тестообразная спелость		
	Z 87	Твердая тестообразная спелость		
Полная спелость Z 90–99	Z 90	-----	Созревание	11.3
	Z 91	Зерно жесткое (трудно разделить с помощью ногтя)		
	Z 92	Зерно твердое (больше не вдавливаются ногтем)		11.4
	Z 93	Зерно осыпается		
	Z 94	Перезрелость, солома отмирает и разрушается		
	Z 95	Семена в состоянии покоя		
	Z 96	Жизнеспособные семена, дающее 50 % всхожести		
	Z 97	Семена вышли из состояния покоя		
	Z 98	Индукцируется вторичный покой		
	Z 99	Потеря вторичного покоя		

чение стадии набухания листового влагалища начинается на один больше, чем число листьев, образованных главным побегом, т. е. номер флагового листа плюс один (например, 1 + x.2, 1 + x.4, 1 + x.6, 1 + x.8 и 2 + x.0). Это может привести к путанице, поскольку номер флагового листа не является постоянной величиной для всех сортов. По этой причине шкалу Haun используют в основном для описания стадий роста до стадии набухания листового влагалища. Эта фаза завершается, когда начинает появляться колос. Появление колоса описывается как 2 + x.2, 2 + x.4, 2 + x.6, 2 + x.8 и 3 + x.0. D.B. Fowler (2018) провел сравнение шкал Haun, Feekes и Zadoks (табл. 4). Как видно из таблицы, цифровые обозначения стадий не совпадают, что может привести к путанице. Поэтому для описания и изучения роста желательно применять один код из всех известных на данный момент.

Код BVCH

К концу 1980-х гг. растущие взаимосвязи в международных исследованиях, посвященных сельскохозяйственным культурам, и электронная обработка результатов потребовали создания международной системы со стандартным опи-

санием и кодированием стадий развития растений. Такая система была также необходима для улучшения коммуникации между сельскохозяйственными науками и другими научными дисциплинами, такими как селекция, энтомология, фитопатология, ботаника и фенология. В ответ на это две рабочие группы из Германии (в то время разделенной на Западную и Восточную) одновременно разработали новые шкалы. Федеральный центр биологических исследований в области сельского и лесного хозяйства ФРГ (The Federal Biological Research Centre for Agriculture and Forestry, BBA) опубликовал с 1979 по 1988 г. серию буклетов с описанием фенологических стадий определенных культур (Meier, 1985), а члены Академии сельскохозяйственных наук ГДР разработали скоординированный десятичный код для многочисленных культур (Buhtz et al., 1990)

Тем не менее цель единой кодировки так и не была реализована. Вторая группа разработчиков единой международной шкалы состояла из сотрудников четырех компаний, которые на протяжении десятилетий проводили полевые сельскохозяйственные исследования. Авторы сформировали



Рис. 1. Стадии роста пшеницы Z 00–10 по J.C. Zadoks et al. (1974)
Fig. 1. Stages of wheat growth Z 00–10 according to J.C. Zadoks et al. (1974)



Рис. 2. Стадии роста озимой пшеницы Z 21–29 по J.C. Zadoks et al. (1974)
Fig. 2. Growth stages Z 21–29 of winter wheat according to J.C. Zadoks et al. (1974)

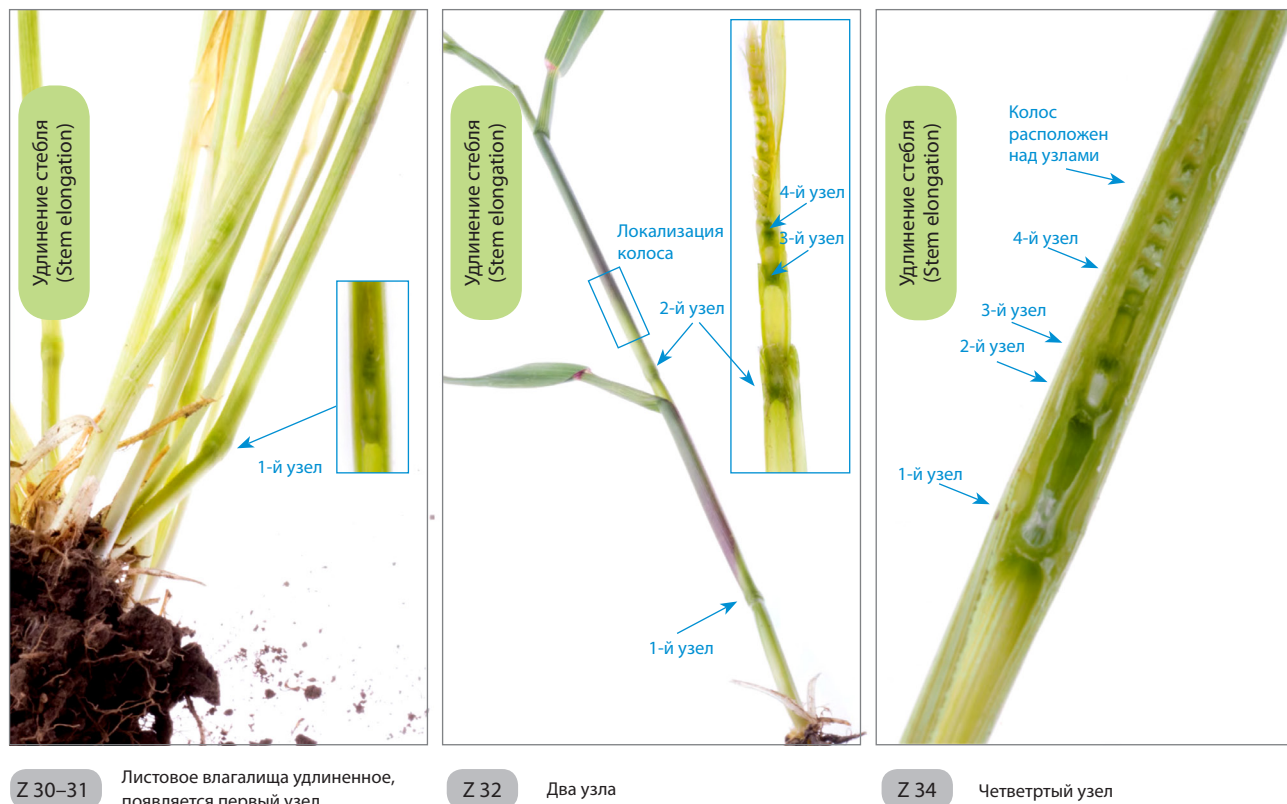


Рис. 3. Стадии роста озимой пшеницы Z 30–34 по J.C. Zadoks et al. (1974)
 Fig. 3. Growth stages Z 31–39 of winter wheat according to J.C. Zadoks et al. (1974)

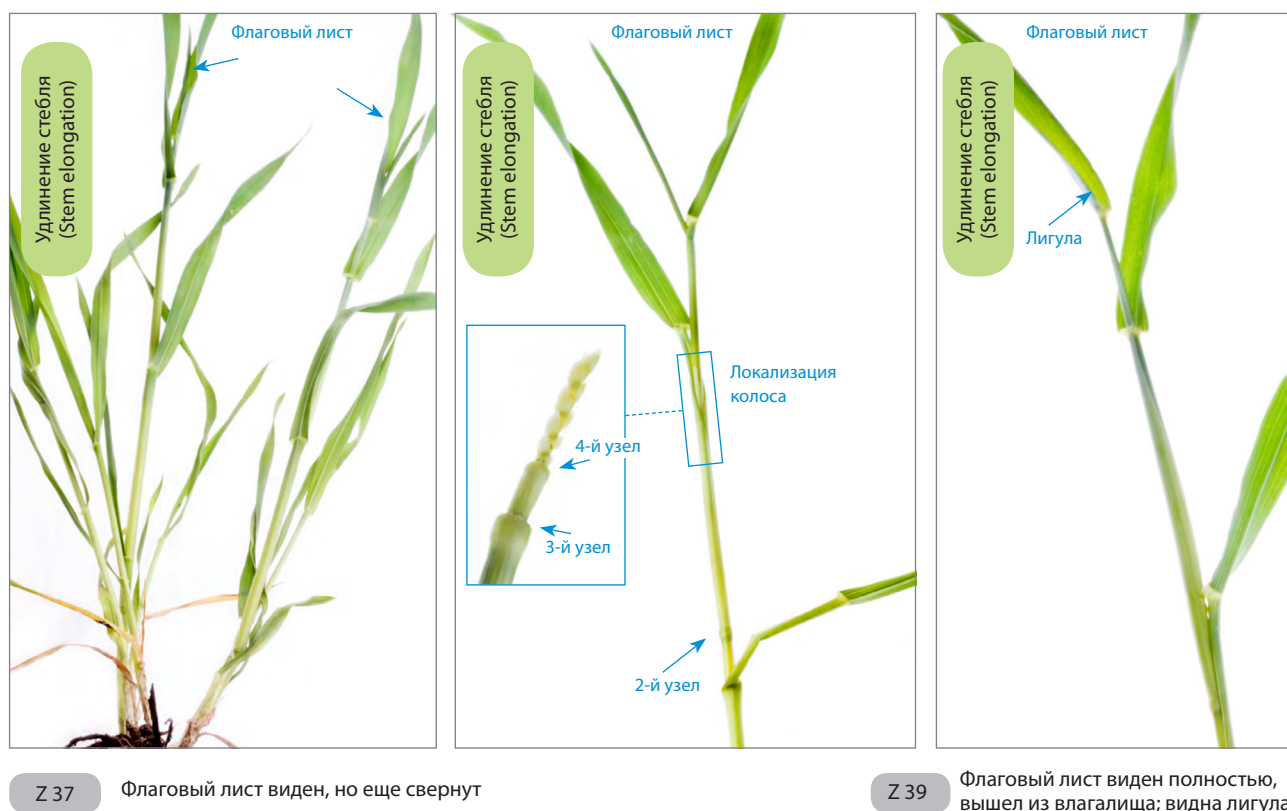
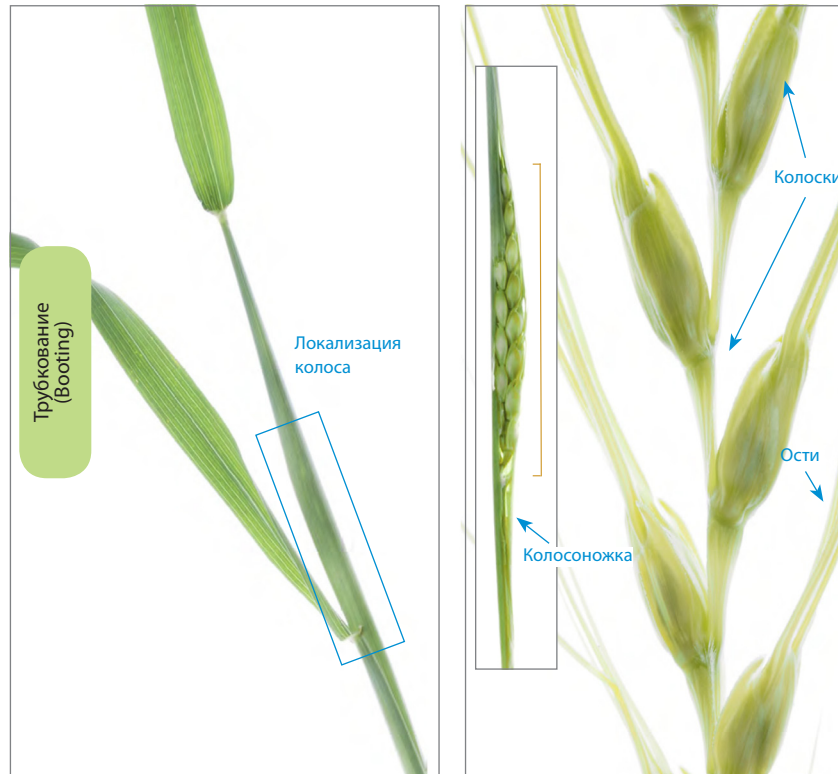


Рис. 4. Стадии роста озимой пшеницы Z 37–39 по J.C. Zadoks et al. (1974)
 Fig. 4. Growth stages Z 37–39 of winter wheat according to J.C. Zadoks et al. (1974)



Z 45 Влагище флагового листа вздуто; колос в листовом влагище

Рис. 5. Стадия роста озимой пшеницы Z 45 по J.C. Zadoks et al. (1974)
Fig. 5. Growth stage Z 45 of winter wheat according to J.C. Zadoks et al. (1974)



Z 50 Видны ости колоса

Рис. 6. Стадия роста озимой пшеницы Z 50 по J.C. Zadoks et al. (1974)
Fig. 6. Growth stage Z 50 of winter wheat according to J.C. Zadoks et al. (1974)

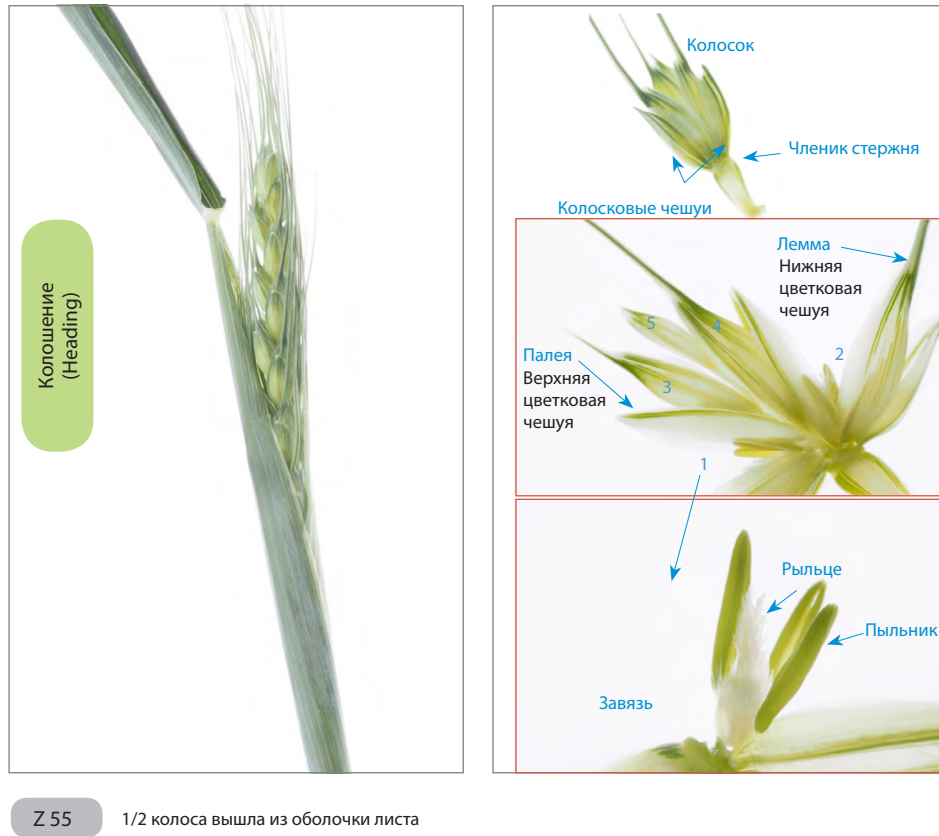


Рис. 7. Стадия роста озимой пшеницы Z 55 по J.C. Zadoks et al. (1974)
 Fig. 7. Growth stage Z 55 of winter wheat according to J.C. Zadoks et al. (1974)

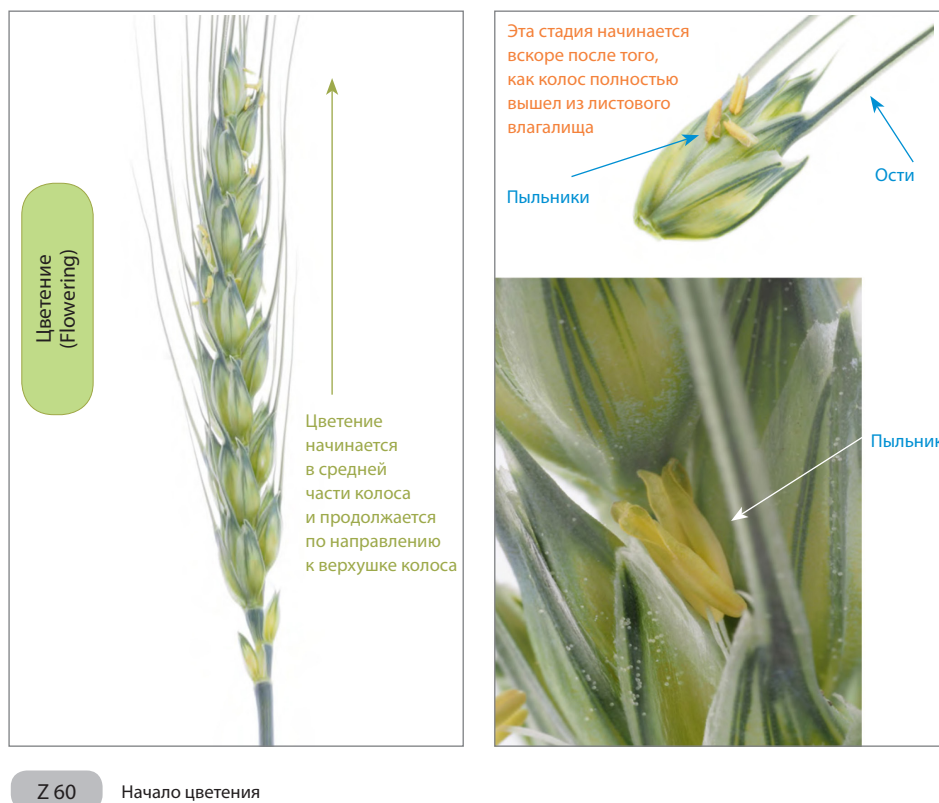


Рис. 8. Стадия роста озимой пшеницы Z 60 по J.C. Zadoks et al. (1974)
 Fig. 8. Growth stage Z 60 of winter wheat according to J.C. Zadoks et al. (1974)

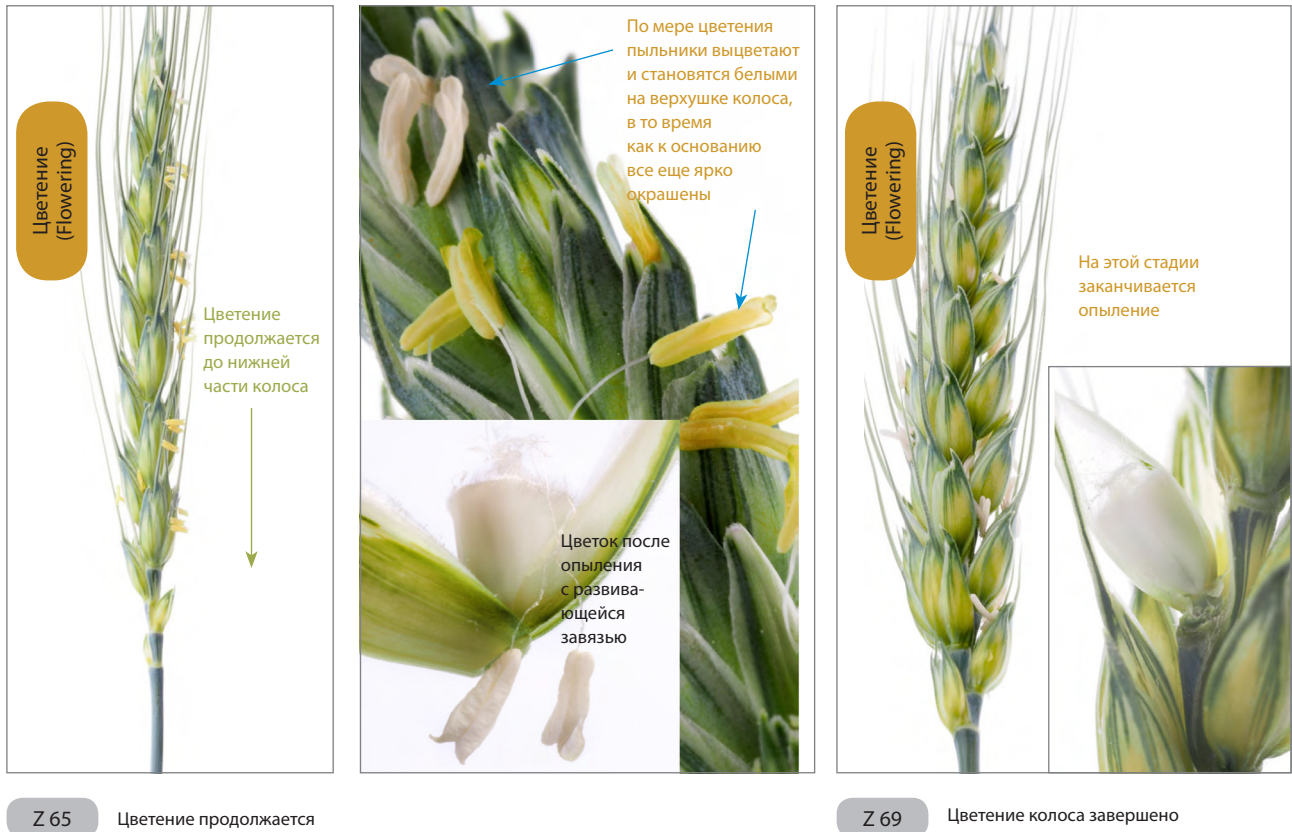


Рис. 9. Стадии роста озимой пшеницы Z 65–69 по J.C. Zadoks et al. (1974)
Fig. 9. Growth stages Z 65–69 of winter wheat according to J.C. Zadoks et al. (1974)



Рис. 10. Стадии роста озимой пшеницы Z 71–75 по J.C. Zadoks et al. (1974)
Fig. 10. Growth stages Z 71–75 of winter wheat according to J.C. Zadoks et al. (1974)



Рис. 11. Стадия роста озимой пшеницы Z 85 по J.C. Zadoks et al. (1974)

Fig. 11. Growth stage Z 85 of winter wheat according to J.C. Zadoks et al. (1974)



Рис. 12. Стадии роста озимой пшеницы Z 91–92 по J.C. Zadoks et al. (1974)

Fig. 12. Growth stages Z 91–92 of winter wheat according to J.C. Zadoks et al. (1974)

Таблица 4. Сравнение стадий роста озимой пшеницы по шкалам Haun, Feekes и Zadoks (из: Fowler, 2018. С. 1002)
Table 4. Comparison of winter wheat growth stages according to Haun, Feekes and Zadoks scales (from: Fowler 2018. P. 1002)

Шкала			Описание	Шкала			Описание
Haun	Feekes	Zadoks	Прорастание (Germination)	Haun	Feekes	Zadoks	Трубкование (Booting)
		0	Сухое зерно			40	---
		1	Начало набухания	8-9++		41	Влагалище флагового листа удлиняется
		3	Набухание завершено	9.2	10	45	Влагалище флагового листа вздуто
		5	Появление зародышевых корней			47	Раскрытие влагалища флагового листа
		7	Из семени появился coleoptиль	10.1		49	Видны первые ости
0		9	Лист на верхушке coleoptиля				
				Haun	Feekes	Zadoks	Колошение (Heading)
Haun	Feekes	Zadoks	Рост проростка (Seedling development)	10.2	10.1	50	Виден первый колосок колоса
	1	10	Появление первого листа		10.2	53	1/4 часть колоса видна
		11	Первый лист развернут	10.5	10.3	55	1/2 часть колоса видна
1.+		12	Развернуты 2 листа	10.7	10.4	57	3/4 части колоса видны
1.+		13	Развернуты 3 листа	11	10.5	59	Появился весь колос
2.+		14	Развернуты 4 листа				
3.+		15	Развернуты 5 листьев	Haun	Feekes	Zadoks	Цветение (Flowering)
4.+		16	Развернуты 6 листьев	11.4	10.51	60	Начало цветения
5.+		17	Развернуты 7 листьев	11.5		65	Цветение половины колоса
6.+		18	Развернуты 8 листьев	11.6		69	Цветение закончено
7.+		19	Развернуты 9 и более листьев				
8.+				Haun	Feekes	Zadoks	Молочная спелость (Milk)
Haun	Feekes	Zadoks	Кущение (Tillering)			70	---
		20	Только главный побег	12.1	10.54	71	Зерно водянистое
	2	21	Главный побег и 1 боковой	13		73	Ранняя молочная спелость
		22	Главный побег и 2 боковых		11.1	75	Средняя молочная спелость
		23	Главный побег и 3 боковых			77	Поздняя молочная спелость
		24	Главный побег и 4 боковых				
		25	Главный побег и 5 боковых	Haun	Feekes	Zadoks	Восковая спелость (Dough)
	3	26	Главный побег и 6 боковых			80	---
		27	Главный побег и 7 боковых	14		83	Ранняя восковая спелость
		28	Главный побег и 8 боковых		11.2	85	Мягкая восковая спелость
		29	Главный побег и более 9 боковых	15		87	Твердая восковая спелость
Haun	Feekes	Zadoks	Удлинение стебля (Stem elongation)	Haun	Feekes	Zadoks	Полная спелость (Ripening)
	4-5	30	Побеги прямостоячие			90	---
	6	31	Различается 1 узел		11.3	91	Зерно твердое (трудно разделяется ногтем)
	7	32	Различаются 2 узла				
		33	Различаются 3 узла	16	11.4	92	Зерно твердое
		34	Различаются 4 узла			93	Зерновки удерживаются непрочно
			Различаются 5 узлов			94	Переспелость, соломина отмирает и ломается
		35				95	Зерна в состоянии покоя
		36	Различаются 6 узлов			96	50 % семян способны к прорастанию
	8	37	Появляется флаговый лист			97	Семена вышли из состояния покоя
	9	39	Виден язычок флагового листа				Вторичный покой
						98	Потеря вторичного покоя
						99	

Примечание. Значения шкалы Haun от трубкования до созревания зависят от количества листьев на главном стебле. В таблице описаны стадии роста на примере растения с восемью листьями на главном стебле.

ровали рабочую группу, состоящую из представителей государственных органов, науки и промышленности, которая впоследствии опубликовала 27 описаний стадий развития сельскохозяйственных культур и дикорастущих растений на четырех языках (английский, немецкий, испанский, французский) (Meier et al., 2009). Аббревиатура кода BVCH происходит от названия организаций, стоящих у истоков его разработки: **B** – Biologische Bundesanstalt for Land-und Forstwirtschaft (Биологическое федеральное учреждение сельского и лесного хозяйства); **B** – Bundessortenamt (Федеральное сортовое управление); **CH** – Chemical Industry (Химическая промышленность в составе Объединения аграрной промышленности) (Куликович, Куликович, 2014).

Н. Hack и коллеги (1992) впервые опубликовали принципы действительно единой шкалы, а описание стадий развития для наиболее важных культур завершено в книге BVCH – Monograph, Growth Stages of Plants (Meier, 1997). Эти документы внесли значительный вклад во всемирное распространение системы BVCH в исследованиях растений и способствовали решению многих междисциплинарных коммуникационных проблем.

В настоящее время монография BVCH (Meier, 2018) включает 48 идентификационных ключей для сельскохозяйственных культур и дополнительные ключи для многолетних злаков (дву- и однодольные, злаки, многолетние растения). Недавно биология развития многих других сельскохозяйственных культур описана по шкале BVCH для согласования производственных процессов (Rajan et al., 2011; Zhao et al., 2019; Singh et al., 2021).

Шкала BVCH – система единообразного кодирования фенологически сходных стадий роста для всех одно- и двудольных видов растений. Публикация BVCH-кодов для некоторых культур (Bleiholder et al., 1989; международная система BVCH¹) вызвала значительный интерес, и они были быстро приняты во всем мире (Meier et al., 2009). Принцип действия классификации прост и основан на ранее известной шкале, разработанной Zadoks, чтобы избежать значительных отклонений от этого широко используемого фенологического ключа. Преимущество системы кодирования BVCH по сравнению со шкалой Zadoks в том, что она включает одно- и двудольные растения. Согласно коду BVCH, весь процесс вегетации злаков подразделяется на десять основных и десять дополнительных стадий, что позволяет четко классифицировать как основные, так и вторичные этапы роста и развития растений (табл. 5) (Куликович, Куликович, 2014; международная система BVCH¹). Важной вехой для международного признания кодов BVCH, используемых в процессе управления защитой растений, стало решение о введении шкалы BVCH обязательной для всех официальных испытаний средств защиты растений, принятое в 2004 и 2006 гг. EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization) (Meier et al., 2009).

Развитие конуса нарастания побега пшеницы

Урожайность пшеницы зависит от числа зерен в колосе, которые закладываются в течение длительного периода до начала цветения. Большинство этих процессов происходит,

когда зачаток колоса заключен внутри побега и не виден невооруженным глазом. Для простой и точной идентификации этого периода исследователи используют различные цифровые шкалы развития колоса. Как правило, все известные шкалы включают словесное описание развития верхушки побега (апекса) или, как принято в отечественной литературе – конуса нарастания, с учетом корреляции между размером и номером стадии.

В прошлом предпринято много попыток описать все важные этапы развития колоса. Одно из самых ранних описаний развития апекса ячменя опубликовано J.C. Lermer и G. Holzner (1888). В дальнейшем обширные исследования проведены американским ботаником O.T. Bonnett (1936), который детально описал и наглядно показал на хорошо выполненных микрофотографиях этапы формирования колосьев и метелок, а также различных частей цветков у растений ячменя, пшеницы, овса и кукурузы с момента возникновения недифференцированного конуса нарастания. Такие же исследования в предвоенные годы начаты советскими учеными А.А. Сапегиним, Г.В. Заблудой, С.А. Алекперовым, Д.Г. Лукьяновым. С. Barnard (1955) представил одно из почти полных описаний развития колоса. В 14 этапах он проиллюстрировал последовательность развития апекса от вегетативной стадии до стадии белого пыльника. P.V. Nicholls (1974) также описал почти полную шкалу из 11 стадий. Еще одна шкала введена P. Stefany (1993), который разработал полную шкалу (с апекса до цветения) с идентифицируемыми стадиями на основе иллюстраций ранее опубликованных шкал (Briggle, 1967; Nerson et al., 1980; Gardner et al., 1985; Kirby, Appleyard, 1987).

S.R. Waddington и коллеги (1983) разработали шкалу развития для ячменя и пшеницы от появления всходов (стадия 0) до цветения (стадия 10), основанную на морфогенезе сначала апекса, затем цветков и, наконец, пестика (табл. 6, рис. 13–15), поскольку, по мнению авторов, пестик демонстрирует более заметные, прерывистые изменения в морфологии и росте до цветения, чем другие структуры (например, леммы, ости, пыльники). Однако эта классификация основана на иллюстрациях, посвященных развитию ячменя, а не пшеницы, и не содержит важную стадию – этап терминального колоска. Кроме того, начиная со стадии 4.5 и далее шкала Waddington составлена с учетом только одного признака – развития пестика. Вместе с тем наблюдение за развитием пестика пшеницы представляется трудной задачей, поскольку требует опыта, времени и приборов. Тем не менее следует отметить, что шкала Waddington является полезным инструментом для описания развития отдельных элементов цветка.

Одна из наиболее распространенных шкал для изучения развития апекса у пшеницы подробно описана в работах E.J.M. Kirby, M. Appleyard (1987) и E.J.M. Kirby (2002) с использованием фотографий. На рисунке 16 проиллюстрированы ключевые стадии этой шкалы. Согласно E.J.M. Kirby и M. Appleyard (1987), развитие колоса пшеницы можно разделить на десять стадий.

Вегетативная стадия пшеницы. Растение пшеницы на вегетативной стадии является проростком; вегетативная стадия начинается с момента прорастания до появления на

Таблица 5. Стадии развития зерновых по шкале BBCH (из: Куликович С.Р., Куликович Е.Н., 2014)
Table 5. Stages of grain development according to BBCH scale (from: Kulikovich S.R., Kulikovich E.N., 2014)

0: Прорастание BBCH 00–09	00	Сухие семена	
	01	Начало набухания семян	
	03	Набухание семян завершено	
	05	Появление из зерна зародышевого корешка	
	06	Корень удлинённый, видны корневые волоски и/или боковые корни	
	07	Колеоптиль появился из зерновки	
	09	Всходы: колеоптиль появляется на поверхности почвы, на конце колеоптиля показывается лист	
1: Рост проростков BBCH 10–19	10	Первый лист пробивается через колеоптиль, а затем разворачивается	Кущение может начаться раньше, чем на стадии 13, в этом случае продолжить со стадии 21
	11	Первый лист развернулся	
	12	Стадия двух листьев. Второй лист разворачивается	
	13	Стадия трех листьев	
	14–18	Развернуто 4–8 листьев	
	19	Развернуто 9 и более настоящих листьев	
2: Кущение BBCH 20–29	20	Развернуто 9 и более настоящих листьев	Если удлинение стебля начинается до окончания кущения, переходить к стадии 30
	21	Начало кущения: наличие главного побега и одного побега кущения	
	22	Наличие главного побега и двух побегов кущения	
	23	Главный побег и три побега кущения	
	24–28	Главный побег и четыре и более побегов кущения	
3: Удлинение стебля BBCH 30–39	29	Конец кущения: главный побег, а также 9 и более побегов кущения. Максимум нет	
	30	Начало удлинения стебля: главный побег и побеги кущения, распрямившись, начинают удлиняться. Расстояние от колоса до узла кущения должно быть не более 1 см	
	31	Стадия 1-го узла: узел залегает близко к поверхности почвы, первый узел как минимум на 1 см выше узла кущения	
	32	2-й узел как минимум на 2 см выше 1-го узла.	
	33	3-й узел как минимум на 2 см выше 2-го узла	
	34–36	Можно обнаружить четвертый-шестой узел	
	37	Появление неразвернутого флагового листа	
4: Трубкавание BBCH 40–49	39	Стадия флагового листа: флаговый лист полностью развернут, лигула флагового листа становится заметной	
	40	-----	
	41	Ранняя стадия трубкавания: удлиняется влагалище флагового листа	
	43	Средняя стадия трубкавания: колос внутри стебля сдвинут вверх, влагалище флагового листа чуть заметно вздуто	
	45	Поздняя стадия трубкавания: вздутие влагалища флагового листа	
	47	Открытие влагалища флагового листа	
5: Колошение BBCH 50–59	49	Видны ости колоса или остевидные отростки	
	50	-----	
	51	Первый колосок колоса едва заметен над влагалищем флагового листа или выступает сбоку из листового влагалища	
	53	Появилась 1/4 часть колоса	
	55	Середина колошения: появилась 1/2 часть колоса	
6: Цветение BBCH 60–69	57	Появилось 3/4 части колоса	
	59	Конец колошения: колос появился полностью	
	60	-----	
	61	Начало цветения: видны первые пыльники	
7: Созревание зерна (71–99), стадия молочной спелости BBCH 70–79	65	Середина цветения: 50 % зрелых пыльников	
	69	Конец цветения: все колоски полностью отцвели	
	70	-----	
	71	Первые зерна достигли половины окончательного размера. Характерный признак данной микростадии – при раздавливании зерновки выделяется жидкость прозрачного цвета	
	73	Ранняя молочная спелость – выделяется жидкость молочного цвета, благодаря чему данная стадия и получила свое название	
8: Стадия восковой спелости BBCH 80–89	75	Средняя молочная спелость. Содержание зерновок молочное, однако при раздавливании зерновки выделяется более густая, чем раньше, жидкость молочного цвета. Зерна еще зеленые	
	77	Поздняя молочная спелость. К окончанию стадии молочной спелости меняются цвет зерновки, ее консистенция и размер. Эндосперм напоминает тесто. Тестообразное зерно. К этому моменту зерно достигает окончательного размера. Кроме того, ощущаются изменения консистенции при растирании зерновки пальцами	
	83	Ранняя восковая спелость. Зерно в это время по твердости похоже на воск, отсюда название спелости. Зерно имеет желтый цвет, мягкое, оставляет след на поверхности от надавливания ногтем	
	85	Мягкая восковая спелость. Содержимое зерновок еще мягкое, но сухое, режется ногтем. Вмятина от ногтя выпрямляется	
9: Стадия созревания BBCH 91–99	87	Твердая восковая спелость, эндосперм затвердевает. Вмятина от ногтя не выпрямляется. Оболочки зерновки плотные с типичной окраской	
	89	Ранняя полная спелость. Зерно твердое, с трудом можно разломить ногтем	
	92	Поздняя полная спелость, на зерне больше не остается отпечатков ногтя. Зерновка твердая (не режется ногтем)	
	93	Зерна осыпаются	
	97	Растение полностью погибает, стебли ломаются	
	99	Стадия сбора урожая	

Таблица 6. Шкала начальных этапов развития колоса и морфогенеза пестика у пшеницы (из: Waddington et al., 1983, P. 125)
Table 6. Scale of spike initial and pistil morphogenesis for wheat (from: Waddington et al., 1983, P. 125)

Шкала	Описание
1.5	Переходный апекс
2	Стадия раннего двойного гребня
2.5	Стадия двойного гребня
3	Видны примордии колосковых чешуй
3.25	Видны примордии леммы (нижняя цветковая чешуя)
3.5	Видны примордии цветка
4.	Видны примордии тычинки
4.25	Видны примордии пестика
4.5	Видны примордии плодолистика
5	Плодолистик окружает с трех сторон семязпочку
5.5	Канал столбика закрывается; полость завязи закрыта со всех сторон, но остается открытой сверху
6	Канал столбика остается в виде узкого отверстия; присутствуют два коротких круглых примордия столбика
6.5	Столбики начинают удлиняться
7	Разветвления рыльца начинают дифференцироваться как набухшие клетки на верхушке столбиков
7.5	Одноклеточные волоски начинают дифференцироваться на стенке завязи; разветвления рыльца удлиняются
8	Разветвления рыльца и волоски на стенке завязи удлиняются
8.5	Разветвления рыльца и волоски на стенке завязи продолжают удлиняться
9	Столбики и разветвления рыльца прямостоячие; дифференцируются волоски рыльца
9.5	Столбики и разветвления рыльца отклоняются наружу. Волоски рыльца хорошо развиты
10	Столбики отклонены наружу, разветвления рыльца широко расставлены; пыльцевые зерна попадают на рыльце

главном побеге от четырех до восьми листьев (в зависимости от даты посева и сорта).

Стадия двойного гребня пшеницы. На стадии двойного гребня видны примордии колоска и листа. Как правило, под каждым гребнем примордия колоска находится один гребень примордия листа, который менее заметен. Почти половина колосковых примордиев иницирована (рис. 16).

Стадия примордий колосковых чешуй пшеницы. Примордии колосковых чешуй можно обнаружить под колосковыми примордиями. Примордии колосковых чешуй у пшеницы на этой стадии крупнее и лучше видны, чем у ячменя (см. рис. 16).

Стадия примордий леммы (нижняя цветковая чешуя) пшеницы. На этой стадии примордии леммы первого и второго цветков в нижней части одного колоска можно обнаружить между примордиями колосковых чешуй и флоральной меристемой. Сначала зарождаются примордии леммы, затем пазушные меристемы дифференцируются для формирования других цветочных структур. Между тем развитие колосков происходит в меристематическом куполе верхушки побега, продолжается иницирование новых примордий колосков.

Стадия примордий цветка пшеницы. На этой стадии хорошо видна многоцветковая природа колоска. Меристема цветка растет в пазухе каждой леммы. Меристема колоска иницирует больше цветков. Внутри каждого колоска видно чередующееся расположение цветков и выделяется плавно закругленный меристематический купол цветка (см. рис. 16).

Стадия терминального колоска пшеницы. На этой стадии зародышевый колос почти полностью сформирован;

больше колоски не образуются. Последние несколько примордий, иницированных куполом верхушки апекса, не развиваются в колоски, а становятся примордиями колосковых чешуй и цветками терминального колоска (см. рис. 16).

Стадия белого пыльника пшеницы. В меристематическом куполе каждого колоска заложено более восьми примордиев цветка. Колосковые чешуи частично закрывают цветок, тычинки и другие структуры не видны, так как первый и второй цветки в нижней части колоска полностью закрыты леммами. На леммах второго и третьего цветков в нижней части колоска видны небольшие ости. Пыльники можно проверить, удалив колосковые чешуи и леммы цветка.

Стадия зеленого пыльника пшеницы. Наиболее очевидным признаком на этой стадии является то, что, колосковые чешуи покрывают весь колосок, за исключением верхушки побега. В основании цветка выделяются две лодиколы (цветковые пленки). Крылья палеи (верхняя цветковая чешуя) складываются и частично закрывают три тычинки.

Стадия желтого пыльника пшеницы. Колосковые чешуи полностью сформированы, видны леммы первых трех цветков. Лемма первого цветка имеет короткую ость; ости второго и третьего цветков у основания колоска длиннее. Первый, второй и третий цветки у основания колоска хорошо развиты. Пыльники ярко-зеленовато-желтые. Четвертый цветок у основания колоска имеет крупные пыльники и хорошо развитый пестик.

Цветение пшеницы. Желтые пыльники выходят из первого и второго цветков у основания колоска. Во время цветения нередуцированные цветки становятся фертильными. Завязи первых цветков быстро развиваются от стадии колосения до цветения. Происходит отмирание менее сфор-

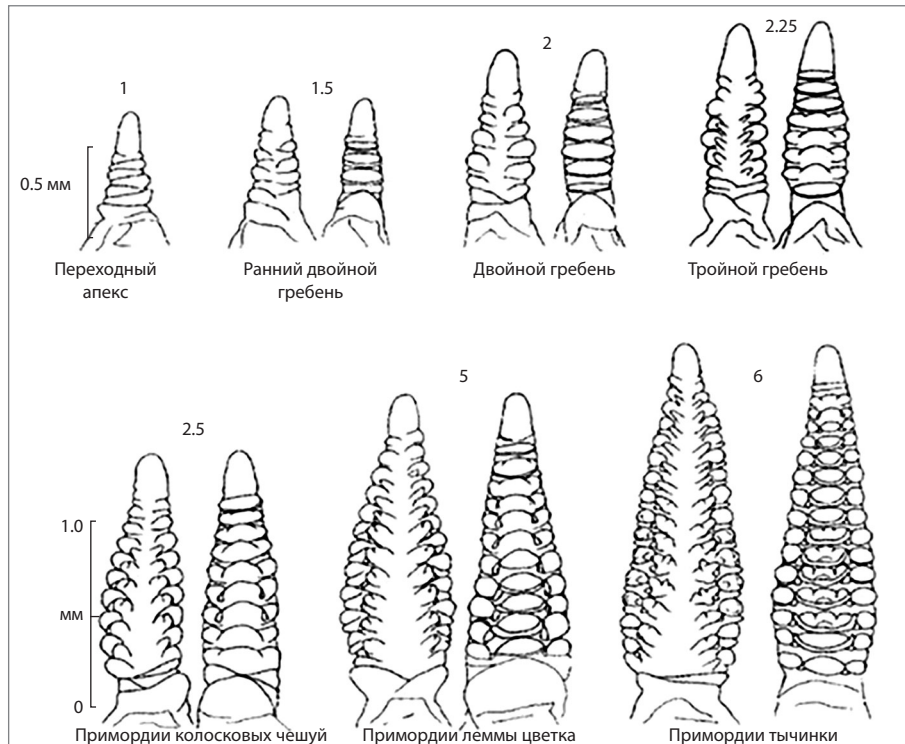


Рис. 13. Шкала развития ячменя. Морфогенез начальных этапов развития колоса (из: Waddington et al., 1983. P. 120)
Здесь и далее на рис. 14, 15 цифры (0–10) над рисунками обозначают значения по шкале Waddington
Fig. 13. Scale of development for barley. Morphogenesis of the spike initial (from: Waddington et al., 1983. P. 120)
Numbers above the drawings indicate values on the scale (0–10)

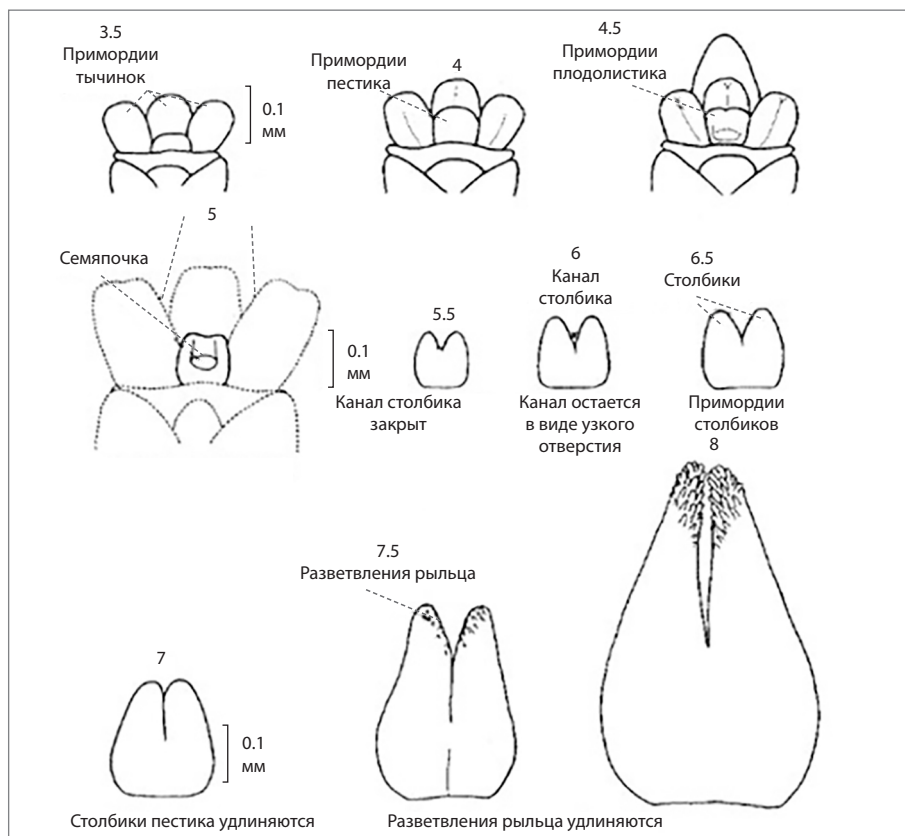


Рис. 14. Шкала развития ячменя. Ранние стадии морфогенеза пестика (из: Waddington et al., 1983. P. 121)
Fig. 14. Scale of development for barley. Early stages in the morphogenesis of the pistil (from: Waddington et al., 1983. P. 121)

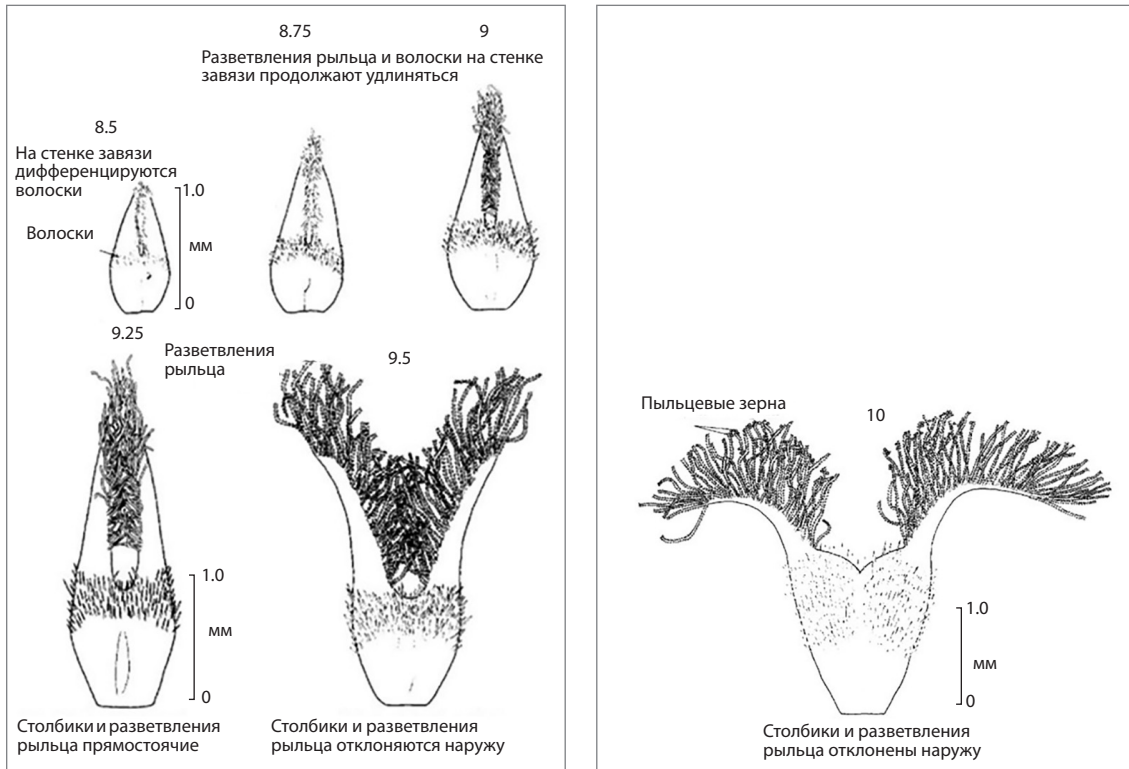


Рис. 15. Шкала развития ячменя. Поздние стадии морфогенеза пестика (из: Waddington et al., 1983. P. 122)

Fig. 15. Scale of development for barley. Later stages in the morphogenesis of the pistil (from: Waddington et al., 1983. P. 122)

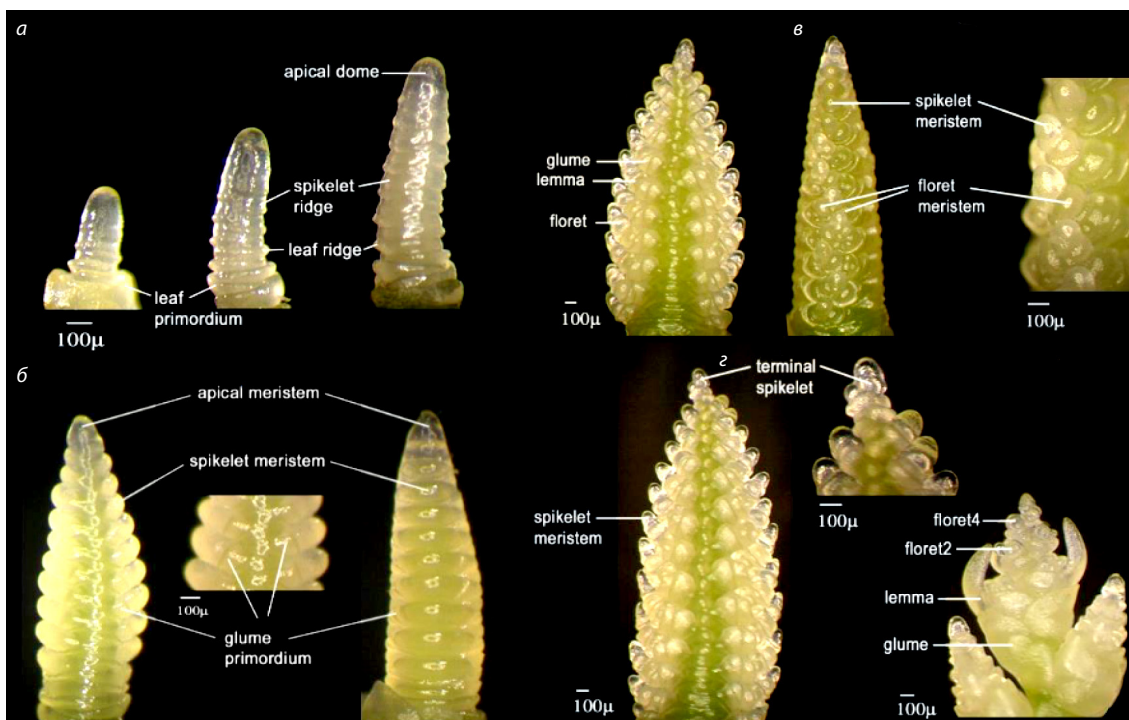


Рис. 16. Фотографии конуса нарастания растения пшеницы: а – стадия 3 (двойной гребень); б – стадия 5 (примордии колосковых чешуй); в – стадия 7 (примордии цветка); г – стадия 10 (терминальный колосок) (из: Wheat apex development: Images from under the microscope [сайт], 2014)

Обозначения: apical dome – купол апекса, apical meristem – апикальная меристема, floret – цветок, floret meristem – меристема цветка, glume – колосковые чешуи, glume primordium – примордий колосковых чешуй, leaf primordium – примордий листа, leaf ridge – листового валика или гребня, lemma – нижняя цветковая чешуя, spikelet ridge – колосковый бугорок или гребень, spikelet meristem – меристема колоска, terminal spikelet – терминальный колосок

Fig. 16. Pictures under magnification of the apex of a wheat plant: a, stage 3 – double ridge; b, stage 5 – glume primordium; c, stage 7 – floret primordium; d, stage 10 – terminal spikelet (from: Wheat apex development: Images from under the microscope [website], 2014)

Таблица 7. Описание развития колоса пшеницы (из: Vahamidis et al., 2014. P. 224)**Table 7.** The description of wheat spike development (from: Vahamidis et al., 2014. P. 224)

Стадия	Описание
1	Переходный апекс
2	Ранняя стадия двойного гребня. Начало удлинения верхушки апекса
3	Стадия двойного гребня. Одиночные гребни почти полностью заменены на двойные гребни
4	Стадия позднего двойного гребня. Увеличение примордиев колоска
5	Виден примордий колосковой чешуи
6	Виден примордий леммы (нижней цветковой чешуи)
7	Виден примордий цветка
8	Стадия терминального колоска. На вершине апекса завершено формирование примордиев колоска. Виден первый примордий цветка терминального колоска
9	Поздний терминальный колосок (3 цветка в колоске и инициация четвертого цветка). Удлинение первой ости колоска базального цветка. Виден примордий тычинки
10	Удлинение второй ости (4 цветка в колоске и возможная инициация пятого цветка). Удлинение примордия третьей тычинки
11	Две ости колоска достигают апикальной меристемы колоска (4 цветка в колоске и инициация пятого цветка)
12	Две ости колоска вдвое длиннее самого колоска (5 цветков в колоске и возможная инициация шестого цветка). Формирование пыльцевых мешков
13	Удлинение третьей ости колоска, базальные цветки полностью покрыты леммой (5 цветков в колоске и инициация шестого цветка)
14	Третья ость колоска достигает апикальной меристемы колоска (6 цветков в колоске и возможная инициация седьмого цветка). Пестик окружает семяпочку с трех сторон
15	Два базальных цветка полностью покрыты леммами (6 цветков в колоске и инициация седьмого цветка). В базальном цветке закрыт канал столбика
16	Инициация и удлинение волосков на члениках колосового стержня непосредственно под колосками (7 цветков в колоске и возможная инициация восьмого цветка). Три базальных цветка полностью покрыты леммами. В базальном цветке начинают удлиняться столбики
17	Дальнейшее удлинение волосков на члениках колосового стержня (7 цветков в колоске и инициация восьмого цветка). Разветвления рыльца дифференцируются в базальном цветке
18	Видна апикальная меристема колоска, или стадия белых пыльников
19	Ранняя стадия зеленых пыльников. Апикальная меристема колоска окружена леммами цветков, которые сформировались первыми
20	Стадия зеленых пыльников. Два или более цветков в колоске с зелеными пыльниками. Разветвления рыльца и волоски завязи удлиняются в базальном цветке

мированных зачатков цветков. Цвет пыльника становится полностью желтым, рыльце хорошо развито.

Исследовательская группа во главе с P. Vahamidis (2014) предложила еще одну шкалу, охватывающую все стадии развития апекса пшеницы – от зарождения до появления колоса (табл. 7, рис. 17). Классификация включает 20 отдельных стадий: первая стадия – переходный апекс, последняя – стадия перед колошением; этапы разделены одинаковыми по размеру периодами для получения непрерывной шкалы. Данная шкала позволяет описать весь процесс развития апекса пшеницы, обнаружить без микроскопа такие признаки, как развитие остей, леммы и колосковых чешуй, а также включает комбинацию более стабильных признаков, как например развитие пестика и тычинок, последовательное формирование цветков для точной оценки развития колоса, что делает ее удобной и точной в использовании.

Соотнесение развития апекса со стадиями роста растений не всегда точно, так как апикальная меристема имеет различную чувствительность к факторам, контролирующим развитие (Acevedo et al., 2002). Поэтому для обеспечения точности необходимо проводить оба измерения.

На основании анализа представленных стадий роста можно выделить несколько ключевых этапов органогенеза зачаточного колоса побега пшеницы. Прежде всего развитие апекса можно разделить на вегетативный и генеративный периоды, вегетативный период отделен от генеративного переходной или промежуточной фазами (Ростовцева, 1976; Waddington et al., 1983; Kirby, Appleyard, 1987; Vahamidis et al., 2014). В качестве признака, указывающего на переход апекса побега в генеративное состояние, отмечают его существенное удлинение (Биология..., 1982; Waddington et al., 1983; Куперман, 1984; Vahamidis et al., 2014). Одновременно с удлинением конуса происходит сегментация оси на будущие членики стержня колоса. Конус нарастания побега в вегетативный период не обнаруживает признаков вытягивания и тем более сегментации. По шкале Zadoks трудно определить эту стадию – примерно она начинается с появления первых двух-трех листьев (рис. 18).

Первая ключевая стадия, которую можно увидеть при изучении апекса – двойной гребень. Считается, что двойной гребень представляет собой этап, на котором начинается генеративное развитие растения. Колосковая ось считает-

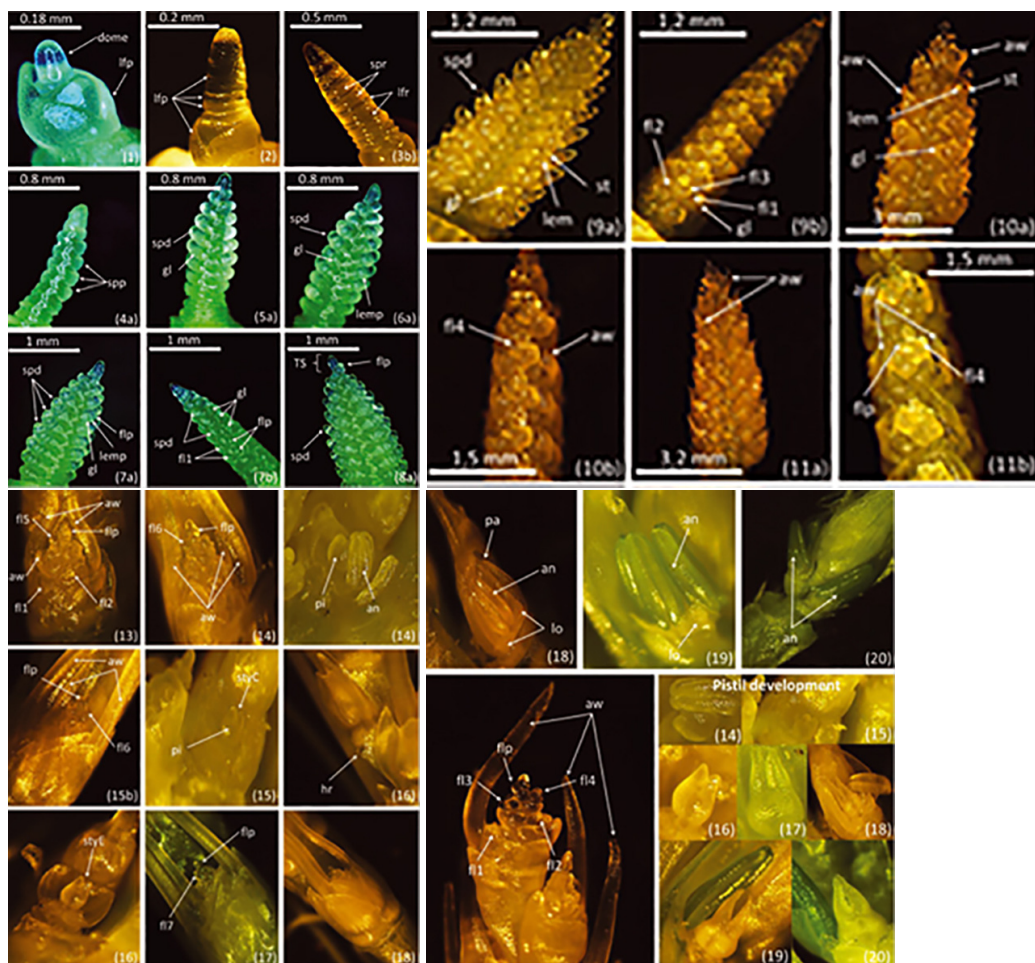


Рис. 17. Изображения развития апекса пшеницы

Цифры в скобках обозначают стадии, буквы – лицевую (a) и боковую (b) стороны колоса. an – пыльники, aw – ости, fl – цветки, flp – примордий цветка, gl – примордий колосковых чешуй, hr – волоски, lem – нижняя цветковая чешуя или лемма, lemp – примордий леммы, lfr – листовый валик или гребень, lfp – примордий листа, lo – лодикулы, pa – верхняя цветковая чешуя, или палеа, pi – пестик, spd – меристематический купол колоска, spp – примордий колоска, spr – колосковый гребень, st – тычинки, styC – канал столбика закрыт, styE – столбики пестика начинают удлиняться (из: Vahamidis et al., 2014. P. 223)

Fig. 17. Illustration of the proposed scale of wheat apex development. The numbers in the parentheses refer to the proposed stages. (a) Face view of spike, (b) side view of spike. An – anthers, aw – awns, fl – florets, flp – floret primordium, gl – glume primordium, hr – hairs, lem – lemma, lemp – lemma primordium, lfr – leaf ridge, lfp – leaf primordium, lo – lodicules, pa – palea, pi – pistil, spd – spikelet meristematic dome, spp – spikelet primordium, spr – spikelet ridge, st – stamens, styC – stylar canal closing, styE – styles begin elongating (from: Vahamidis et al., 2014. P. 223)

ся заложеной, если она имеет вид выпуклости (бугорка), окаймленной в основании узким валиком. В англоязычной литературе такую структуру называют двойным кольцом или двойным гребнем (double ridges) (Tottman, 1987; Waddington et al., 1983; Vahamidis et al., 2014). Начиная со стадии двойного гребня развитие новых листовых примордиев зачастую прекращается. Стадию двойного гребня трудно соотнести со стадией роста по шкале Zadoks, но можно сказать, что она происходит во время основных стадий Z14 и Z23 – это периоды раннего роста листьев и до кущения (которые происходят одновременно) (см. рис. 18). По мере развития верхушки примордий колоска, наблюдаемые на стадии двойного гребня, продолжают развиваться в примордии цветков, которые в свою очередь формируют примордии леммы, палеи и того, что станет другими компонентами колоса. Именно на этой стадии растение приступает к

генеративному развитию, причем удлинение стебля у большинства растений начинается примерно в тот момент, когда леммы становятся видимыми (Rawson, Macpherson, 2000).

Следующая стадия – появление терминального колоска. Завершения заложения зачатков колосков фиксируется, когда начинается формирование зачатка терминального колоска (Waddington et al., 1983; Kirby, Appleyard, 1987; Vahamidis et al., 2014). Терминальный колосок можно легко идентифицировать, так как он растет на вершине колоса и под прямым углом к предшествующим колоскам. Терминальный колосок можно более точно соотнести со стадией роста растения, чем двойной гребень, так как его появление сигнализирует о завершении вегетативной фазы. Конец вегетативной фазы отмечается окончанием кущения растений и началом быстрого удлинения стебля, что примерно коррелирует со стадиями роста по Zadoks Z 31–32 (Rawson,

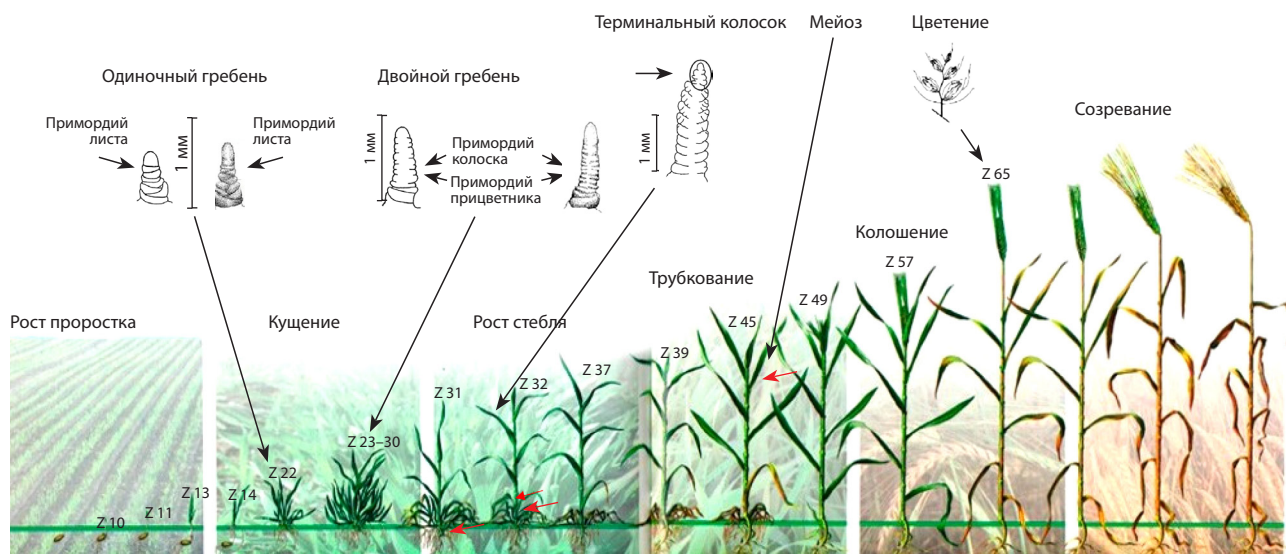


Рис. 18. Соответствие шкалы стадий роста Zadoks с приблизительными сроками наступления определенных стадий роста верхушки апекса (из: Rawson, Macpherson, 2000. P. 8)

Fig. 18. The Zadoks growth stage scale correlated with the approximate timing of certain shoot apex growth stages (from: Rawson, Macpherson, 2000. P. 8)

Macpherson, 2000) (рис. 18). Далее начинается фаза, которую авторы называют по-разному: стеблевание (Куперман, 1955), удлинение стебля (Zadoks, 1985; Tottman, 1987; международная система BBCH), рост стебля (Feekes, 1941), ее можно идентифицировать по внешним признакам.

Таким образом, существующие шкалы условно можно разделить на те, которые описывают весь процесс развития апекса (от переходной стадии до появления колоса или цветения) (Kirby, Appleyard, 1987; Vahamidis et al., 2014) и на те, которые описывают только часть процесса развития (Waddington et al., 1983). Хотя существуют подробные описания фенологических фаз и стадий развития апекса, точную связь между ними установить трудно. Критическими стадиями развития апекса для пшеницы следует считать двойной гребень и терминальный колосок, но точно определить эти стадии по внешнему виду растений невозможно.

Этапы органогенеза по Ф.М. Куперман и совпадение со шкалами развития. Влияние этапов органогенеза на элементы продуктивности растений

Для увеличения урожайности злаковых культур помимо агротехнических мероприятий и внедрения новых методов селекции не менее актуален морфофизиологический анализ формирования элементов продуктивности растений. Основы морфофизиологического анализа зерновых культур изучены и обоснованы Ф.М. Куперман (1952, 1956, 1984) и коллегами (Мурашёв, 2005). Этот метод основан на непрерывном наблюдении за дифференциацией верхушечных меристем побегов в полевых и контролируемых условиях. Авторы, опираясь на исследования физиологов, которые показали, что любой орган растения формируется этапами, ввели понятие этапа органогенеза. Анализ скорости прохождения этапов органогенеза и фенологических фаз во время роста растений позволяет целенаправленно приме-

нять агротехнические методы и влиять на важные элементы продуктивности колоса: число продуктивных побегов, озаренность колоса и массу 1000 зерен. Анализ соответствия фаз развития этапам органогенеза до сих пор широко используют в селекционной работе для оценки выживаемости озимых культур и формирования элементов продуктивности озимой пшеницы (Ананьев, Мурашёв, 1986; Куперман и др., 1974; Мурашёв, 2005).

В развитии пшеницы Ф.М. Куперман (1952, 1956) выделила 12 этапов органогенеза.

I этап – формирование предзародыша; набухание и наклевание семени; рост зародышевого корешка в длину; образование недифференцированного конуса нарастания. Завершается I этап в фазу прорастания семян и появления всходов (Биология..., 1982; Ананьева, Мурашёв, 1986; Мурашёв, 2005).

II этап – дифференциация основания конуса нарастания на зачаточные узлы, междоузлия стебля и зачатки стеблевых листьев. Начинается процесс кущения (Биология..., 1982; Ананьева, Мурашёв, 1986; Мурашёв, 2005).

III этап – процесс дифференциации главной оси зачаточного колоса и образование сегментов (зачаточных члеников) колоса. На этом этапе конус нарастания побега все еще находится близко к уровню земли, и не представляется возможным визуально точно определить начало генеративного развития. Увидеть этот этап можно только под микроскопом. В переходный период зачаток будущего колосоносного междоузлия и первые зачатки члеников колоса закладываются в виде нескольких валикообразных структур, а зачаточный колос удлиняется от 0.1 до 0.3 мм. В их пазухе лишь позднее появятся колосковые бугорки. Последующие же зачатки члеников стержня колоса и колосковые бугорки закладываются одновременно как единые своеобразные двойные структуры или двойные гребни. У них

Таблица 8. Формирование элементов продуктивности озимой пшеницы на разных фазах развития и этапах органогенеза по Ф.М. Куперман и О.Г. Семенову (из: Биология..., 1982. С. 121)**Table 8.** Formation of winter wheat productivity elements at different phases of development and stages of organogenesis by F.M. Kuperman and O.G. Semenov (from: Biology..., 1982. P. 121)

Фаза развития	Код ВВСН	Этап органогенеза по Ф.М. Куперман	Элементы продуктивности
Прорастание	00–10		
Сухое семя	00		Полевая всхожесть, густота стояния растений
Появление зачаточного корешка	05		
Появление coleoptilya	07		
Всходы	10–19		Полевая всхожесть, развитие корневой системы, одновременность всходов и создание исходных условий для дружного, равновеликого роста растений
Выход coleoptilya на поверхность почвы	10	I этап	
Фаза первого листа	11	Дифференциация и рост зародышевых органов	
Фаза второго листа	12		
Фаза третьего листа	13		
Появление четвертого листа, формирование узла кушения, осеннее кушение	14	II этап	Высота растения, число листьев, коэффициент кушения, зимостойкость
Начало кушения: наличие главного побега		Дифференциация основания конуса нарастания (образование зачаточных узлов, междоузлий и стеблевых листьев)	
Полное кушение, развито до 6 побегов.	25	III этап	
Весеннее кушение			Число члеников колосового стержня, длина колоса
Конец кушения, развито максимальное количество стеблей, листовые влагалища удлиняются	29	Дифференциация главной оси зачаточного соцветия на зачатки будущих члеников колосового стержня	
Выход в трубку	30–49	IV этап	Число колосков в колосе, формирование большого количества синхронно развитых стеблей – продуктивное кушение. После IV этапа увеличить длину колоса и количество колосков в нем почти невозможно
Начало выхода в трубку	30	Образование конусов нарастания второго порядка (колосовых бугорков). Изменение колосковых бугорков в колосе второго порядка (ветвление колоса) происходит на IV этапе при усиленном азотном питании и снижении температуры до 10–12 °С	
Появление первого узла	31		
Появление второго узла, начало стеблевания	32	V этап	Число цветков в колосках может увеличиться с 3 до 4–5
		Закладка покровных органов цветка, тычинок и пестиков	
Выход в трубку (1–6 узлов). Начало стеблевания	33–36	VI этап	Фертильность цветков (способность к опылению)
		Окончательное формирование соцветия и цветка. Формирование пыльников (микроспорогенез) и рылец (макроспорогенез)	
Появление флагового листа	37	Продолжение VI этапа – VII этап	Фертильность цветков, плотность колоса
Появление язычка у флагового листа	39	Гаметофитогенез, формирование яйцеклеток и пыльцевых зерен. Рост покровных органов, удлинение члеников колосового стержня	
Набухание листового влагалища	45		
Влагалище лопается и появляется колос	47–49		
Колошение	51–59	VIII этап	Фертильность цветков
Начало колошения	51	Гаметогенез, завершение процессов формирования всех органов соцветия и цветка	
Выколосилась ½ колоса	55		
Колошение завершено	59		
Цветение	61–69		Озаренность колоса, прекращение роста стебля. Растение переходит от вегетативного к репродуктивному развитию
Начало цветения	61	IX этап	
Полное цветение	65	Оплодотворение и образование зиготы	
Конец цветения	69		
Формирование зерна. Содержимое зерновки водянистое	70	X этап	Размер зерновки (длина типичная для сорта, на следующих этапах уже не увеличивается)
		Рост и формирование зерновки, зародыш и эндосперм увеличиваются в размере	
Налив зерна, молочная спелость	71–77		
Ранняя молочная спелость	73	XI этап	Масса 1000 зерен. Натура зерна
Средняя молочная спелость	75	Накопление питательных веществ в зерновке, их рост в ширину и толщину	
Поздняя молочная спелость	77		
Восковая спелость	83–90		Масса зерновки
Ранняя восковая спелость	83	В начале XII этапа продолжается накопление пластических веществ в зерне	
Мягкая восковая спелость	83		
Твердая восковая спелость	87		
Полная спелость	91–99		
Зерновка твердая, растение отмирает, полностью усыхает	91	XII этап	Масса зерновки. Всхожесть семян
Зерно твердое, не разделяется ногтем	92	Превращение питательных веществ в запасные вещества в зерновке	
Период покоя зерновки	95		
Жизнеспособные зерновки способны прорасти на 50 %	96		
Выход зерновки из периода покоя	97		
Появление второго периода покоя	98		
Потеря второго периода покоя	99		

выпуклость колоскового бугорка окаймлена в основании узким валиком. Заложение двойного гребня характеризует начало работы конуса нарастания по заложению колосковых бугорков в репродуктивном периоде по мере того, как развивающийся колос удлиняется до 0.8–1.0 мм. Фенологи определяют переход к III этапу как первую фазу выхода в трубку. Начиная с этого этапа растение пшеницы ориентируется на длину дня (Биология..., 1982; Ананьева, Мурашёв, 1986; Мурашёв, 2005).

IV этап – продолжение дифференцировки элементов соцветия, закладка колосковых чешуй. Прекращается дифференцировка листьев на главной оси побега. III и IV этапы органогенеза большинство растений проходят еще в фазу кущения или чаще в начале выхода в трубку. На этом этапе уже определяется возможная величина колоса (Биология..., 1982; Ананьева, Мурашёв, 1986; Мурашёв, 2005).

V этап – образование и дифференциация цветков. На этом этапе окончательно определяется число цветковых бугорков в соцветии (Биология..., 1982; Ананьева, Мурашёв, 1986; Мурашёв, 2005).

VI этап – формирование пыльников и завязи пестика; происходят процессы микро- и мегаспорогенеза. Усиленно растут средние междоузлия, растения находятся в фазе стеблевания (Биология..., 1982; Ананьева, Мурашёв, 1986; Мурашёв, 2005).

VII этап – развитие мужского и женского гаметофита. Начинается интенсивный рост члеников соцветия и покровных органов цветка (Биология..., 1982; Ананьева, Мурашёв, 1986; Мурашёв, 2005).

VIII этап – завершение образования цветка; образование гамет. На этом этапе происходит выколашивание пшеницы (Биология..., 1982; Ананьева, Мурашёв, 1986; Мурашёв, 2005).

IX этап – цветение, образование зиготы в результате двойного оплодотворения. Рост междоузлий стебля прекращается, начинается репродуктивный период (Биология..., 1982; Ананьева, Мурашёв, 1986; Мурашёв, 2005).

X этап – рост и формирование зерновки (Биология..., 1982; Ананьева, Мурашёв, 1986; Мурашёв, 2005).

XI этап – накопление питательных веществ в семена; фазы молочного и тестообразного состояния. Определяется степень выполненности зерновки (Биология..., 1982; Ананьева, Мурашёв, 1986; Мурашёв, 2005).

XII этап – накопленные в семенах питательные вещества превращаются в запасные; рост зерновки прекращается. Наступает восковая и полная спелость (Биология..., 1982; Ананьева, Мурашёв, 1986; Мурашёв, 2005).

Результаты сопоставления последовательности фенологических фаз с этапами органогенеза озимой пшеницы с указанием влияния каждого этапа на элементы продуктивности растений опубликованы в коллективной работе по исследованию пшениц Алтайского края (Куперман и др., 1974) и приведены в таблице 8.

На основе морфофизиологического анализа показано, что каждый из элементов продуктивности определяется на соответствующем этапе органогенеза. Всего выделяют четыре периода (Биология..., 1982).

В первый период (I–II этапы органогенеза) прорастают семена, появляются всходы; определяется число побегов ку-

щения, количество узловых корней и величина конуса нарастания. У озимой пшеницы II этап длится в течение всей осени и зимы, поэтому число продуктивных побегов обусловлено их выживаемостью в период зимовки (см. табл. 8).

Во второй период (III–IV этапы органогенеза) формируются колоски в колосе. Кроме того, продолжительность III и IV этапов определяется внешними условиями – наиболее важные из них длина дня и температура (Стельмах, Мартынюк, 1998; Hyles et al., 2000; Kronenberg et al., 2021). Дефицит влажности почвы или воздушная засуха приводит к редукции уже заложившихся колосков, а высокие температуры ускоряют прохождение III и последующих этапов (см. табл. 8).

В третий период (V–IX этапы органогенеза) формируются цветки в колосках. У пшеницы в колосках закладывается 6–12 цветков, но большая часть цветков редуцируется, достигнув V–VI этапов. В результате у пшеницы зерновки формируется только 2–5 цветках (см. табл. 8).

В четвертый период (X–XII этапы органогенеза) формируются и наливаются зерновки. Реальную продуктивность пшеницы принято учитывать по числу зерновок колоса у растений, достигших XI–XII этапов (см. табл. 8).

Таким образом, определение этапов органогенеза дает более точные представления о развитии растения, чем определение фенологических фаз. Однако при сопоставлении этапов органогенеза и фенологических фаз возможны существенные затруднения. Так, начало заложения некоторых элементов продуктивности колоса еще можно отнести к определенному этапу органогенеза, но завершение этих процессов остается без привязки к конкретной фенологической фазе. Например, начало заложения зачатков члеников колосового стержня можно ожидать в кущении (III этап органогенеза), начало заложения зачатков колосковых бугорков привязано к началу выхода в трубку (IV этап), а начало заложения зачатков цветков связано с началом стеблевания (V этап). При этом окончание этих стадий остается без привязки к фенологической фазе.

Заключение

Для оценки роста и развития злаковых культур используют анализ последовательности этапов органогенеза или формирования органов (Куперман, 1952, 1956), фенологических фаз развития и роста, отличающихся четко выраженными морфологическими изменениями (Feekes, 1941; Haun, 1973; Zadoks et al., 1974; код BBCH), и анализ развития конуса нарастания побега до появления колоса (Waddington et al., 1983; Kirby, Appleyard, 1987; Tottman, 1987; Vahamidis et al., 2014), которые характеризуются как внешними морфологическими признаками, так и сложными процессами формирования новых органов. Опубликовано много хорошо проиллюстрированных исследований, посвященных развитию апекса злаков. Однако оценка развития апекса требует опыта и навыков и отнимает больше времени, поэтому проще использовать фенологические шкалы для прогнозирования стадий роста и развития злаков. В России принято описывать рост и развитие пшеницы по системе Ф.М. Куперман. Использование шкал Фикеса, Задокса, Хауна и BBCH в отечественной литературе встречается редко, но в статье U. Meier

и коллег (2009) описано применение кода ВВСН на русском и украинском языках для некоторых видов растений. Успешная адаптация злаковых культур зависит от условий прохождения критических стадий роста. Понимание того, как растения реагируют на стрессы окружающей среды на разных стадиях роста, может помочь в оценке состояния посевов и своевременном выявлении недостатка влаги и питания в течение вегетационного периода.

Список литературы / References

- Ананьева Л.В., Мурашёв В.В. Влияние агрометеорологических условий на продолжительность III–IV и V этапов органогенеза и формирование элементов продуктивности колоса озимой пшеницы. *Биологические науки*. 1986;4:82–84.
[Ananyeva L.V., Murashev V.V. Influence of agrometeorological conditions on the duration of III–IV and V stages of organogenesis and formation of productivity elements of winter wheat ear. *Biologicheskie Nauki*. 1986;4:82–84. (in Russian)]
- Биология развития культурных растений. Под ред. Куперман Ф.М. М.: Высшая школа, 1982.
[Biology of development of cultivated plants. Ed. by Kuperman F.M. Moscow: Vysshaya Shkola Publ., 1982. (in Russian)]
- Благовещенский В.А. К вопросу о скрытом росте у злаков. Критические дни в жизни колоса. *Журнал Русского ботанического общества*. 1927;1-2:21–26.
[Blagoveshensky V.A. On the question of hidden growth in cereals. Critical days in the life of the ear. *Journal Russian Botanical Society*. 1927;1-2:21–26. (in Russian)]
- Вильдфлуш И.Р. Эффективность применения микроудобрений и регуляторов роста при возделывании сельскохозяйственных культур. Минск: Белорусская наука, 2011.
[Wildflush I.R. Effectiveness of microfertilizers and growth regulators in the cultivation of crops. Minsk: Belarusian Science Publ., 2011. (in Russian)]
- Гамзикова О.И. Генетика агрохимических признаков пшеницы. Новосибирск, 1994.
[Gamzikova O.I. Genetics of agrochemical wheat traits. Novosibirsk, 1994. (in Russian)]
- Евтушенко Е.В., Чекуров В.М. Продолжительность фаз онтогенеза и некоторые элементы продуктивности колоса у сортов яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) при разнице в интенсивности освещения и фотопериоде. *Сельскохозяйственная биология*. 2008;43(1):60–64.
[Evtushenko E.V., Chekurov V.M. Duration of ontogenesis phases and some elements of ear productivity in varieties of spring soft wheat (*Triticum aestivum* L.) under differences in light intensity and photoperiod. *Selsk Khozyaystvennaya Biologiya = Agricultural Biology*. 2008;43:60–64. (in Russian)]
- Евтушенко Е.В., Чекуров В.М. Генетическое разнообразие реакции на интенсивность света у сортов мягкой пшеницы. *Генетика*. 2000;36(5):666–672.
[Evtushenko E.V., Chekurov V.M. Genetic diversity of responses to light intensity in cultivar of common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Russian Journal of Genetics*. 2000;36(5):540–545]
- Емцева М.В., Ефремова Т.Т., Арбузова В.С. Влияние аллелей *Vrn-B1a* и *Vrn-B1c* на продолжительность фаз развития замещенных и изогенных линий мягкой пшеницы. *Генетика*. 2013;49(5):632–640. DOI 10.7868/S0016675813050056.
[Emtseva M.V., Efremova T.T., Arbuзова V.S. The influence of *Vrn-B1a* and *Vrn-B1c* alleles on the length of developmental phases of substitution and near-isogenic lines of common wheat. *Russian Journal of Genetics*. 2013;49:545–552. DOI 10.1134/S1022795413050050]
- Заблуда Г.В. Индивидуальное развитие и периодизация онтогенеза хлебных злаков. *Сборник научных трудов ВСГИ*. 1974;11:73–79.
[Zabluda G.V. Individual development and periodization of ontogenesis of bread grains. *Sbornik Nauchnykh Trudov VSGI*. 1974;11:73–79. (in Russian)]
- Иванов П.К. Яровая пшеница. М.: ОГИЗ–Сельхозгиз, 1948.
[Ivanov P.K. Spring wheat. Moscow: OGIZ-Selkhozgiz Publ., 1948. (in Russian)]
- Каленская С.М., Присяжнюк О.И., Половинчук А.Ю., Новицкая Н.В. Сравнительная характеристика шкал роста и развития зерновых культур. *Plant Varieties Studying and Protection*. 2018;14(4):406–414. DOI 10.21498/2518-1017.14.4.2018.151906.
[Kalenskaya S.M., Prisyazhnyuk O.I., Polovinchuk A.Y., Novitskaya N.V. Comparative characteristics of the growth and development of grain crop. *Plant Varieties Studying and Protection*. 2018;14(4):406–414. DOI 10.21498/2518-1017.14.4.2018.151906. (in Ukrainian)]
- Куперман Ф.М. Биология развития растений. М.: Высшая школа, 1952.
[Kuperman F.M. Biology of plant development. Moscow: Vysshaya Shkola Publ., 1952. (in Russian)]
- Куперман Ф.М. Этапы органогенеза злаковых культур. М.: МГУ, 1955.
[Kuperman F.M. Stages of organogenesis of cereal crops. Moscow: MSU Publ., 1955. (in Russian)]
- Куперман Ф.М. Биологические основы культуры яровой пшеницы. М.: МГУ, 1956.
[Kuperman F.M. Biological bases of spring wheat culture. Moscow: MSU Publ., 1956. (in Russian)]
- Куперман Ф.М. Морфофизиология растений. Морфофизиологический анализ этапов органогенеза различных жизненных форм покрытосеменных растений. М.: Высшая школа, 1984.
[Kuperman F.M. Morphophysiology of plants. Morphophysiological analysis of the stages of organogenesis of various life forms of the canopy plants. Moscow: Vysshaya Shkola Publ., 1984. (in Russian)]
- Куперман Ф.М., Макарова Г.А., Петрова К.А. Биологические особенности и условия произрастания сельскохозяйственных культур в Алтайском крае. М.: МГУ, 1974.
[Kuperman F.M., Makarova G.A., Petrova K.A. Biological features and growing conditions of agricultural crops in Altai Krai. Moscow: MSU Publ., 1974. (in Russian)]
- Куликович С.Р., Куликович Е.Н. Диагностика стадий развития озимой пшеницы по шкале ВВСН. Минск: Наша Идея, 2014.
[Kulikovich S.R., Kulikovich E.N. Diagnosis of the stages of development of winter wheat using the BBCH scale. Minsk: Nasha Ideya Publ., 2014. (in Russian)]
- Кобыльский В.П., Кратенко М.Н., Васецкая М.Н., Чекмарев В.В. Регуляторы роста защищают зерновые культуры. *Агро XXI*. 2001;1:12–13.
[Kobylsky V.P., Kratenko M.N., Vasitskaya M.N., Chekmarev V.V. Growth regulators protect grain crops. *Agro XXI*. 2001;1:12–13. (in Russian)]
- Киселёва А.А., Салина Е.А. Генетические механизмы формирования времени колошения мягкой пшеницы. *Генетика*. 2018;54(4):381–396. DOI 10.7868/S001667581804001X.
[Kiseleva A.A., Salina E.A. Genetic regulation of common wheat heading time. *Russian Journal of Genetics*. 2018;54(4):375–388. DOI 10.1134/S1022795418030067]
- Мурашёв В.В. Биологический контроль над зерновыми злаками. *Вестник Московского университета. Серия 16. Биология*. 2005;3:3–11.
[Murashov V.V. Biological control of grain crops. *Vestnik Moskovskogo Universiteta. Seriya 16. Biologiya*. 2005;3:3–11 (in Russian)]
- Романова Е.В., Маслов М.И. Регуляторы роста и развития растений с фунгицидными свойствами. *Защита и карантин растений*. 2006;5:26–27.
[Romanova E.V., Maslov M.I. Plant growth and development regulators with fungicidal properties *Zashchita i Karantin Rasteniy = Plant Protection and Quarantine*. 2006;5:26–27. (in Russian)]
- Ростовцева З.П. Цитогистологическая характеристика функциональности верхушечной меристемы в связи с органогенезом. М.: МГУ, 1976.
[Rostovtseva Z.P. Cytological characterization of apical meristem functionality in connection with organogenesis. Moscow: MSU Publ., 1976. (in Russian)]
- Руденко А.И. Определение фаз развития сельскохозяйственных растений. М.: МОИП, 1950.
[Rudenko A.I. Determination of development phases of agricultural plants. Moscow: MOIP Publ., 1950. (in Russian)]
- Сандухадзе Б.И., Марченкова Л.А., Павлова О.В., Мамедов Р.З., Чавдарь Р.Ф., Орлова Т.Г., Бугрова В.В. Устойчивость сортов и линий озимой пшеницы к моделируемому в лабораторных условиях водному стрессу. *Аграрная наука*. 2019;5:57–60. DOI 10.32634/0869-8155-2019-325-5-57-60.

- [Sandukhadze B.I., Marchenkova L.A., Pavlova O.V., Mamedov R.Z., Chavdar R.F., Orlova T.G., Bugrova V.V. Resistance of winter wheat varieties and lines to simulated in vitro water stress. *Agrarian Science*. 2019;5:57-60. (in Russian)]
- Стельмах А.Ф., Мартынюк В.Р. Эффекты доминантных генов *Ppd* по особенностям органогенеза у озимой мягкой пшеницы. *Цитология и генетика*. 1998;32(6):27-34.
- [Stelmakh A.F., Martynuk V.R. Effects of dominant *Ppd* genes on organogenesis in common winter wheat. *Cytology and Genetics*. 1998;32(6):27-34. (in Russian)]
- Файт В.И., Стельмах А.Ф. Наследование периода «всходы-колошение» при скрещивании реагирующих на интенсивность освещения сортов пшеницы. *Цитология и генетика*. 2004;38(2):3-8.
- [Fait V.I., Stelmakh A.F. Inheritance of the period «seedlings-heading» when crossing wheat varieties that respond to the intensity of illumination. *Cytology and Genetics*. 2004;38(2):3-8. (in Russian)]
- Файт В.И., Стельмах А.Ф., Федорова В.Р. Начало включения и продолжительность экспрессии генов фотопериодической реакции у озимой мягкой пшеницы. *Цитология и генетика*. 2006;40(2):12-19.
- [Fait V.I., Stelmakh A.F., Fedorova V.R. Onset of inclusion and duration of expression of genes for photoperiodic response in winter common wheat. *Cytology and Genetics*. 2006;40(2):12-19. (in Russian)]
- Чекуров В.М., Сергеева С.И. Новые регуляторы роста. *Защита и карантин растений*. 2003;3:13-15.
- [Chekurov V.M., Sergeeva S.I. New growth regulators. *Zashchita i Karantin Rasteniy = Plant Protection and Quarantine*. 2003;3:13-15. (in Russian)]
- Чижов Б.А. Особенности роста листьев яровой пшеницы и влияние на них азотного питания. *ДАН СССР*. 1946;52(4):361-364.
- [Chizhov B.A. Peculiarities of growth of spring wheat leaves and influence of nitrogen nutrition on them. *DAN USSR*. 1946;52(4):361-364. (in Russian)]
- Чуманова Е.В., Ефремова Т.Т., Кручинина Ю.В. Влияние различных доминантных аллелей локусов *VRN* и их комбинаций на продолжительность фаз развития и продуктивность у линий мягкой пшеницы. *Генетика*. 2020;56(7):805-818. DOI 10.31857/S0016675820070024.
- [Chumanova E.V., Efremova T.T., Kruchinina Y.V. The effect of different dominant *VRN* alleles and their combinations on the duration of developmental phases and productivity in common wheat lines. *Russian Journal of Genetics*. 2020;56(7):822-834. DOI 10.1134/S1022795420070029]
- Abu-Asab M.S., Peterson P.M., Shetler S.G., Orli S.S. Earlier plant flowering in spring as a response to global warming in the Washington, DC, area. *Biodivers. Conserv.* 2001;10:597-612. DOI 10.1023/A:1016667125469.
- Acevedo E., Silva P., Silva H. Wheat growth and physiology. In: Curtis B.C., Rajaram S., Gymez Macpherson H. (Eds.). *Bread Wheat Improvement and Production*. Rome: FAO, 2002;39-70.
- Amir J., Sinclair T.R. A model of the temperature and solar-radiation effects on spring wheat growth and yield. *Field Crops Res.* 1991;28(1-2):47-58. DOI 10.1016/0378-4290(91)90073-5.
- Angus J.F., Moncur M.W. Water stress and phenology in wheat. *Aust. J. Agric. Res.* 1977;28(2):177-181. DOI 10.1071/AR9770177.
- Appendino M.L., Slafer G.A. Earliness per se and its dependence upon temperature in diploid wheat lines differing in the major gene *Eps-A^{m1}* alleles. *J. Agric. Sci.* 2003;141(2):149-154. DOI 10.1017/S0021859603003472.
- Barber H.M., Carney J., Alghabari F., Gooding M.J. Decimal growth stages for precision wheat production in changing environments? *Ann. Appl. Biol.* 2015;166(3):355-371. DOI 10.1111/aab.12207.
- Barnard C. Histogenesis of the inflorescence and flower of *Triticum aestivum* L. *Aust. J. Bot.* 1955;3(1):1-20. DOI 10.1071/BT9550001.
- Bauer A., Frank A.B., Black A.L. Estimation of spring wheat leaf growth rates and anthesis from air temperature. *Agron. J.* 1984;76(5):829-835. DOI 10.2134/agronj1984.00021962007600050027x.
- Bonnett O.T. The development of the wheat spike. *J. Agric. Res.* 1936;53(6):445-451.
- Bleiholder H., Boom T.V.D., Langelüddecke P., Stauss R. Einheitliche Codierung der phänologischen Stadien bei Kultur- und Schadpflanzen. *Gesunde Pflanzen*. 1989;41(11):381-384. (in German)
- Briggle L.W. Morphology of wheat. In: *Wheat and Wheat Improvement*. Madison, WI: American Society of Agronomy Inc., 1967;89-116.
- Buhtz E., Boese L., Grunert C., Hamann W. Koordinierter Dezimalcode (KDC) der phänologischen Entwicklung für landwirtschaftliche Kulturpflanzen. Gemüse, Obst und Sonderkulturen. *Feldversuchswesen*. 1990;7:17-38. (in German)
- Cabeza C.E., Kin A.G., Deblonde P.M.K., Ledent J.F. Use of Haun's scale for monitoring development of wheat from flag leaf emergence to end of stem elongation. *Eur. J. Agron.* 1996;5(3-4):237-246. DOI 10.1016/S1161-0301(96)02014-X.
- Cabeza C.E., Kin A.G., Ledent J.F. Effect of water shortage on main shoot development and tillering of common and spelt wheat. *J. Agron. Crop Sci.* 1993;170(4):243-250. DOI 10.1111/j.1439-037X.1993.tb01082.x.
- Cao W., Moss D.N. Temperature effect on leaf emergence and phyllochron in wheat and barley. *Crop Sci.* 1989;29(4):1018-1021. DOI 10.2135/cropsci1989.0011183X002900040038x.
- Cao W., Moss D.N. Phyllochron change in winter wheat with planting date and environmental changes. *Agron. J.* 1991;83(2):396-401. DOI 10.2134/agronj1991.00021962008300020027x.
- Farooq M., Bramley H., Palta J.A., Siddique K.H.M. Heat stress in wheat during reproductive and grain-filling phases. *Crit. Rev. Plant Sci.* 2011;30(6):491-507. DOI 10.1080/07352689.2011.615687.
- Farooq M., Rizwan M., Nawaz A., Rehman A., Ahmad R. Application of natural plant extracts improves the tolerance against combined terminal heat and drought stresses in bread wheat. *J. Agron. Crop Sci.* 2017;203(6):528-538. DOI 10.1111/jac.12214.
- Feekes W. De Tarwe en haar milieu [Wheat and its environment]. In: *Verlagen van de Technische Tarwe Commissie*. Groningen, 1941;17:523-888. (in German)
- Fischer R.A. Wheat physiology: a review of recent developments. *Crop Pasture Sci.* 2011;62(2):95-114. DOI 10.1071/CP10344. <http://www.publish.csiro.au/journals/cp/>
- Fleckinger J. Les stades végétatifs des arbres fruitiers en rapport avec les traitements. In: *Congrès pomologie de France. Supplément*. Villefrance: Société pomologique de France, 1948;81-93. (in French)
- Fowler D.B. Growth Stages of Wheat. In: *Winter Wheat Production Manual*. Ch. 10. Ducks Unlimited Canada and Conservation Production Systems Ltd., 2018;1001-1012.
- Fuertes-Mendizábal T., Aizpurua A., González-Moro M.B., Estavillo J.M. Improving wheat breadmaking quality by splitting the N fertilizer rate. *Eur. J. Agron.* 2010;33(1):52-61. DOI 10.1016/j.eja.2010.
- Gardner J.S., Hess W.H., Trione E.J. Development of the young wheat spike: A SEM study of Chinese spring wheat. *Am. J. Bot.* 1985;72(4):548-559. DOI 10.2307/2443587.
- Garrido-Lestache E., López-Bellido R.J., López-Bellido L. Durum wheat quality under Mediterranean conditions as affected by N rate, timing and splitting, N form and S fertilization. *Eur. J. Agron.* 2005;23(3):265-278. DOI 10.1016/j.eja.2004.12.0.
- Hack H., Bleiholder H., Buhr L., Meier U., Schnock-Fricke U., Stauss R., Weber E., Witzemberger A. Einheitliche Codierung der phänologischen Entwicklungsstadien mono- und dikotyler Pflanzen. – Erweiterung BBCH-Skala, Allgemein. *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd.* 1992;44(12):265-270. (in German)
- Haun J.R. Visual quantification of wheat development. *Agron. J.* 1973;65(1):116-119. DOI 10.2134/agronj1973.00021962006500010035x.
- Hay R.K., Delecolle R. The setting of rate of development of wheat plants at crop emergence: influence of the environment on rates of leaf appearance. *Ann. Appl. Biol.* 1989;115(2):333-341. DOI 10.1111/j.1744-7348.1989.tb03392.x.
- Hyles J., Bloomfield M.T., Hunt J.R., Trethowan R.M., Trevaskis B. Phenology and related traits for wheat adaptation. *Heredity*. 2020;125:417-430. DOI 10.1038/s41437-020-0320-1.
- Keller C., Baggolini M. Les stades repères dans la végétation du blé. *Revue Romande d'Agriculture (Lausanne)*. 1954;10:17-20. (in French)
- Khadka K., Earl H.J., Raizada M.N., Navabi A. A Physio-morphological trait-based approach for breeding drought tolerant wheat. *Front. Plant Sci.* 2020;11:715. DOI 10.3389/fpls.2020.00715.
- Kiss T., Dixon L.E., Soltész A., Bányai J., Mayer M., Balla K., Allard V., Galiba G., Slafer G.A., Griffiths S., Veisz O., Karsa I. Effects of ambient temperature in association with photoperiod on phenology and on the expressions of major plant developmental genes in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Cell Environ.* 2017;40(8):1629-1642. DOI 10.1111/pce.12971.

- Kirby E.J.M. Botany of the Wheat Plant. In: Curtis B.C., Rajaram S., Macpherson H.G. (Eds.). Bread Wheat: Improvements and Production. FAO Plant Production and Protection Series No. 30. Rome: FAO, 2002;30-52.
- Kirby E.J.M., Appleyard M. Cereal Development Guide. Stoneleigh (Kenilworth, UK): NAC Cereal Unit, 1987.
- Kirby E.J.M., Appleyard M., Fellowes G. Leaf emergence and tillering in barley and wheat. *Agronomie*. 1985;5(3):193-200.
- Klemm M. Der gegenwärtige Stand der Frage über die Schädlichkeit des Apfelblütenstechers (*Anthonomus pomorum* L.). *Z. Angew. Entomologie*. 1937;23:223-26. (in German)
- Klepper B., Rickman R.W., Peterson C.M. Quantitative characterization of vegetative development in small cereal grains. *Agron. J.* 1982;74(5):789-792. DOI 10.2134/agronj1982.00021962007400050005x.
- Knott C.M. A key for the stages of development of the pea. *Ann. Appl. Biol.* 1987;111(1):233-244. DOI 10.1111/j.1744-7348.1987.tb01450.x
- Kolbe W. Seasonal course of cereal growth stages in relation to annual weather and crop protection measures. *Pflanzenschutz-Nachrichten Buyer*. 1974;27:312-363.
- Kolbe W. Studies on the course of development of cereals (1968-1984) in relation to sowing time. *Pflanzenschutz-Nachrichten Buyer*. 1984;37:337-423.
- Kronenberg L., Yates S., Boer M.P., Kirchgessner N., Walter A., Hund A. Temperature response of wheat affects final height and the timing of stem elongation under field conditions. *J. Exp. Bot.* 2021;72(2):700-717. DOI 10.1093/jxb/eraa471.
- Landes A., Porter J.R. Comparison of scales used for categorising the development of wheat, barley, rye and oats. *Ann. Appl. Biol.* 1989;115(2):343-360. DOI 10.1111/j.1744-7348.1989.tb03393.x.
- Large E.C. Growth stages in cereals illustration of the Feekes scale. *Plant Pathol.* 1954;3(4):128-129. DOI 10.1111/j.1365-3059.1954.tb00716.x
- Laurie D.A., Griffiths S., Dunford R.P., Christodoulou V., Taylor S.A., Cockram J., Beales J., Turner A. Comparative genetic approaches to the identification of flowering time genes in temperate cereals. *Field Crops Res.* 2004;90(1):87-99. DOI 10.1016/j.fcr.2004.07.007.
- Leather S.R. Precise knowledge of plant growth stages enhances applied and pure research. *Ann. Appl. Biol.* 2010;157(2):159-161. DOI 10.1111/j.1744-7348.2010.00426.x.
- Lermer J.C., Holzner G. Beiträge zur Kenntnis der Gerste. München: R. Oldenburg, 1888. (in German)
- Lieth H. Purposes of a Phenology Book. In: Phenology and Seasonality Modeling. New York: Springer-Verlag, 1974;3-19.
- Martin D.A., Miller S.D., Alley H.P. Spring wheat response to herbicides applied at three growth stages. *Agron. J.* 1990;82(1):95-97 DOI 10.2134/agronj1990.00021962008200010022x.
- Meier U. Die Merkblattserie 27. Entwicklungsstadien von Pflanzen der Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft. *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd.* 1985;37:76-77.
- Meier U. (Ed.). Growth stages of plants. Entwicklungsstadien von Pflanzen. Estadios de las plantas. Stades de développement des plantes. Berlin, Wien: Blackwell Wissenschafts-Verlag, 1997. (in German)
- Meier U., Bleiholder H., Buhr L., Feller C., Hack H., Heß M., Lancashire P.D., Schnock U., Stauß R., van den Boom T., Weber E., Zwerger P. The BBCH system to coding the phenological growth stages of plants – history and publications. *J. Kulturpflanzen*. 2009;61(2):41-52.
- Meier U. Growth stages of mono- and dicotyledonous plants. Quedlinburg: Julius Kühn-Institut (JKI), 2018. DOI 10.5073/20180906-074619.
- Mott J.J., McComb A.J. Effects of moisture stress on the growth and reproduction of three annual species from an arid region of Western Australia. *J. Ecol.* 1975;63(3):825-834. DOI 10.2307/2258604.
- Nerson H., Sibony M., Pinthus M.J. A scale for the assessment of the developmental stages of the wheat (*Triticum aestivum* L.) spike. *Ann. Bot.* 1980;45(2):203-204.
- Nicholls P.B. Interrelationship between meristematic regions of developing inflorescences of four cereal species. *Ann. Bot.* 1974;38(157):827-837.
- Ochagavía H., Kiss T., Karsai I., Casas A.M., Igartua E. Responses of barley to high ambient temperature are modulated by vernalization. *Front. Plant Sci.* 2022;12:776982 DOI 10.3389/fpls.2021.776982.
- Peñuelas J., Filella I., Comas P. Changed plant and animal life cycles from 1952 to 2000 in the Mediterranean region. *Glob. Change Biol.* 2002;8(6):531-554. DOI 10.1046/j.1365-2486.2002.00489.x.
- Peñuelas J., Filella I. Responses to a warming world. *Science*. 2001;294(5543):793-795. DOI 10.1126/science.1066860.
- Prasad V.P.V., Djanaguiraman M. Response of floret fertility and individual grain weight of wheat to high temperature stress: sensitive stages and thresholds for temperature and duration. *Funct. Plant Biol.* 2014;41(12):1261-1269. DOI 10.1071/FP14061.
- Prasad P.V.V., Pispipati S.R., Ristic Z., Bukovnik U., Fritz A.K. Impact of night time temperature on physiology and growth of spring wheat. *Crop Sci.* 2008;48(6):2372-2380. DOI 10.2135/cropsci2007.12.0717.
- Rademacher W. Plant growth regulators: Backgrounds and uses in plant production. *J. Plant Growth Regul.* 2015;34:845-872. DOI 10.1007/s00344-015-9541-6.
- Rajan S., Tiwar D., Singh T., Saxena P., Singh S., Reddy N., Upret K.K., Burondkar M., Bhagwan A., Kennedy R. Application of extended BBCH scale for phenological studies in mango (*Mangifera indica* L.). *J. Appl. Hortic.* 2011;13(2):108-114 DOI 10.37855/jah.2011.v13i02.25.
- Rawson H.M., Macpherson H.G. Irrigated wheat: managing your crop. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome: FAO, 2000.
- Robinson M.A., Letarte J., Cowbrough M.J., Sikkema P.H., Tardif F.J. Winter wheat (*Triticum aestivum* L.) response to herbicides as affected by application timing and temperature. *Can. J. Plant Sci.* 2015;95(2):325-333. DOI 10.4141/cjps-2014-109.
- Sanna G., Giunta F., Motzo R., Mastrangelo A.M., De Vita P. Genetic variation for the duration of pre-anthesis development in durum wheat and its interaction with vernalization treatment and photoperiod. *J. Exp. Bot.* 2014;65(12):3177-3188. DOI 10.1093/jxb/eru170.
- Schulz R., Makary T., Hartung K., Gruber S., Donath S., Dohler J., Weiss K., Ehrhart E., Claupein W., Piepho H.P., Pekrun C., Müller T. Is it necessary to split nitrogen fertilization for winter wheat? On-farm research on Luvisols in South-West Germany. *J. Agric. Sci.* 2015;153(4):575-587. DOI 10.1017/S002185961400.
- Simmons S.R., Oelke E.A., Anderson P.M. Growth and Development Guide for Spring Wheat. St. Paul, MN: University of Minnesota Agricultural Extension Service, 1985.
- Singh A.K., Bajpai A., Rajan S., Das S.S., Mishra K.K. Modified BBCH codification and correlation of phenological characteristics with climatic variables in Jamun (*Syzgium cumini* skeels). *Sci. Hortic.* 2021;283:110081 DOI 10.1016/j.scienta.2021.110081.
- Slafer G.A., Rawson H.M. Sensitivity of wheat phasic development to major environmental factors: a re-examination of some assumptions made by physiologists and modellers. *Funct. Plant Biol.* 1994;21(4):393-426. DOI 10.1071/PP9940393.
- Slafer G.A., Whitechurch E.M. Manipulating wheat development to improve adaptation and to search for alternative opportunities to increase yield potential. In: Reynolds M.P., Ortiz-Monasterio J.I., McNab A. (Eds.). Application of physiology to wheat breeding. Mexico City: CIMMYT, 2001;167-170.
- Soenen A. Les bases de l'avertissement en culture fruitière. Le développement du bourgeon floral. Comptes rendus de Recherches. IRSIA, 1951. (in French)
- Soenen A. Les bases de l'avertissement en culture fruitière. Dissertation. Louvain: Institut Agronomique, 1952. (in French)
- Sparks T.H., Menzel A., Stenseth N.C. European cooperation in plant phenology. *Clim. Res.* 2009;39:175-177. DOI 10.3354/cr00829.
- Stefany P. Vernalization requirement and response to day length in guiding development in wheat. Wheat Special Report No. 22. México: CIMMYT, 1993.
- Suárez-López P., Wheatley K., Robson F., Onouchi H. CONSTANS mediates between the circadian clock and the control of flowering in Arabidopsis. *Nature*. 2001;410(6832):1116-1120. DOI 10.1038/35074138.
- Sylvester-Bradley R. Revision of a code for stages of development in oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Asp. Appl. Biol.* 1985;10:395-400.
- Thomas W.T.B. The value of decimal cereal growth stages. *Ann. Appl. Biol.* 2014;165(3):303-304. DOI 10.1111/aab.12145.
- Tottman D.R. The decimal code for the growth stages of cereals, with illustrations. *Ann. Appl. Biol.* 1987;110(2):441-454. DOI 10.1111/j.1744-7348.1987.tb03275.x.
- Tottman D.R. The effects of broad-leaved weed herbicides applied to cereal crops at different growth stages. In: Aspects of Applied Biology I: Broad-Leaved Weeds and Their Control in Cereals. Warwick: University of Warwick, 1982;201-210.

- Tottman D.R. The identification of growth stages in winter wheat with reference to the application of growth-regulator herbicides. *Ann. Appl. Biol.* 1977;87(2):213-224. DOI 10.1111/j.1744-7348.1977.tb01877.x.
- Trethowan R.M., Morgunov A., He Z.H., De Pauw R., Crossa J., Warburton M., Baytasov A., Zhang C., Mergoum M., Alvarado G. The global adaptation of bread wheat at high latitudes. *Euphytica*. 2006;152:303-316. DOI 10.1007/s10681-006-9217-1.
- 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. USA*. 2003;100(22):13099-13104. DOI 10.1073/pnas.1635053100.
- Triboi E., Martre P., Triboi-Blondel A.M. Environmentally-induced changes in protein composition in developing grains of wheat are related to changes in total protein content. *J. Exp. Bot.* 2003;54(388):1731-1742. DOI 10.1093/jxb/erg183.
- Troitzky N.N. Vorläufige Untersuchungsmittel der experimentell-biologischen Station für angewandte Entomologie. Leningrad, 1925. Republished in: Kolbe W. (Ed.) Jahreszeitlicher Verlauf der Entwicklungsstadien bei Obstarten in Beziehung zu Jahreswitterung und Pflanzenschutzmaßnahmen. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer*. 1979;32:97-163.
- Ullah A., Nadeem F., Nawaz A., Siddique K.H.M., Farooq M. Heat stress effects on the reproductive physiology and yield of wheat. *J. Agron. Crop Sci.* 2021;208(1):1-17. DOI 10.1111/jac.12572.
- Ullah S., Bramley H., Mahmood T., Trethowan R. A strategy of ideotype development for heat-tolerant wheat. *J. Agron. Crop Sci.* 2020;206(2):229-241. DOI 10.1111/jac.12378.
- Vahamidis P., Karamanos A., Economou G., Fasseas C. A new scale for the assessment of wheat spike morphogenesis. *Ann. Appl. Biol.* 2014;164(2):220-231. DOI 10.1111/aab.12097.
- Waddington S.R., Cartwright P.M., Wall P.C.A. Quantitative scale of spike initial and pistil development in barley and wheat. *Ann. Bot.* 1983;51(1):119-130. DOI 10.1093/oxfordjournals.aob.a086434.
- Whitechurch E.M., Slafer G.A., Miralles D.J. Variability in the duration of stem elongation in wheat and barley genotypes. *J. Agron. Crop Sci.* 2007;193(2):138-145. DOI 10.1111/j.1439-037X.2007.00260.x.
- Wilhelm W.W., McMaster G.S. Importance of the phyllochron in studying development and growth in grasses. *Crop Sci.* 1995;35(1):1-3. DOI 10.2135/cropsci1995.0011183X003500010001x.
- Wu W., Wang Y., Wang L., Xu H., Zörb C., Geilfus C.-M., Xue C., Sun Z., Ma W. Booting stage is the key timing for split nitrogen application in improving grain yield and quality of wheat – A global meta-analysis. *Field Crops Res.* 2022;287:108665. DOI 10.1016/j.fcr.2022.108665.
- Xue C., Auf'm Erley G.S., Rossmann A., Schuster R., Koehle P., Mühling K.H. Split nitrogen application improves wheat baking quality by influencing protein composition rather than concentration. *Front. Plant Sci.* 2016a;7:738. DOI 10.3389/fpls.2016.00738.
- Xue C., Auf'm Erley G.S., Rücker S., Koehler P., Obenauf U., Mühling K.H. Late nitrogen application increased protein concentration but not baking quality of wheat. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 2016b;179(4):591-601. DOI 10.1002/jpln.2015005.
- Yanovsky M.J., Kay S.A. Molecular basis of seasonal time measurement in *Arabidopsis*. *Nature*. 2002;419(6904):308-312. DOI 10.1038/nature00996.
- Zadoks J.C., Chang T.T., Konzak C.F. A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Res.* 1974;14(6):415-421. DOI 10.1111/j.1365-3180.1974.tb01084.x.
- Zhao G., Gao Y., Gao S., Xu Y., Liu J., Sun C., Gao Y., Liu S., Chen Z., Jia L. Phenological growth stages of *Sapindus mukorossi* according to BBCH scale. *Forests*. 2019;10(462):1-15. DOI 10.3390/f1006046.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 13.04.2023. После доработки 26.05.2023. Принята к публикации 07.06.2023.

 pismavavilov.ru

DOI 10.18699/LettersVJ-2023-9-10

Оригинальное исследование

Изучение факультативных форм тритикале после осеннего и весеннего сева

П.И. Стёпочкин , Н.Н. Ермошкина

Аннотация: Факультативные формы тритикале могут давать потомство как после осеннего, так и весеннего сева. Вопрос, при каком типе сева их целесообразней выращивать, решается экспериментально. Цель данной работы заключается в определении способа сева факультативных форм тритикале, при котором они в большей степени реализовывают положительные свойства и потенциал продуктивности в условиях Новосибирской области. В 2020 и 2021 гг. после осеннего и весеннего сева изучены размещенные по черному пару по общепринятой методике полевого опыта факультативные формы тритикале, созданные из двух озимых сортов и четырех яровых коллекционных образцов. Тритикале Цекад 90/5 и Сирс 57/2/4, полученные из озимых сортов, показали длительный вегетационный период и высокую перезимовку (97.5–100 %) в отличие от четырех форм, выделенных из яровых коллекционных образцов – Укро, Квадро, Ульяна, Лотас, у которых этот показатель варьировал от 37.5 (Укро) до 80 (Лотас) %. У всех форм увеличилась натура зерна, масса 1000 зерен, длина соломины, число колосков в колосе, а число зерен и длина колоса уменьшились (кроме Укро) при осеннем севе по сравнению с весенним. Число продуктивных стеблей после осеннего сева и перезимовки было существенно выше, чем после весеннего сева, у трех форм: Цекад 90/5, Сирс 57/2/4 и Квадро. У других трех форм, наоборот, растения после весеннего сева были более кустистыми. У тритикале Цекад 90/5 и Сирс 57/2/4 продуктивность зерна была значительно выше при осеннем севе, чем при весеннем. У четырех форм, выделенных из яровых коллекционных образцов, показатель продуктивности зерна оказался выше при весеннем севе. Таким образом, у факультативных форм тритикале, созданных из озимых сортов, лучшие показатели селекционно ценных признаков проявляются после осеннего сева, а у факультативных форм, созданных из яровых коллекционных форм, – после весеннего сева.

Ключевые слова: факультативная форма; тритикале; осенний сев; весенний сев; перезимовка; признак.

Для цитирования: Стёпочкин П.И., Ермошкина Н.Н. Изучение факультативных форм тритикале после осеннего и весеннего сева. *Письма в Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2023;9(2):81-85. DOI 10.18699/LettersVJ-2023-9-10

Благодарности: Работа поддержана бюджетным проектом ИЦиГ СО РАН FWN-2022-0018.

Original article


Study of facultative forms of Triticale after autumn and spring planting

P.I. Stepochkin , N.N. Ermoshkina

Abstract: Facultative forms of triticale can give offspring both after autumn and after spring sowing. The question of what type of sowing it is more expedient to grow them is being solved experimentally. The purpose of this work is to identify under which method of sowing of facultative triticale forms they better realize positive properties and productivity potential in the conditions of the Novosibirsk region. Two triticale forms made from two winter varieties and four forms made from spring collection accessions were studied in 2020 and 2021 in the experiments of autumn and spring sowing according to the method of field experiments. Triticale Tsekad 90/5 and Sears 57/2/4, made from winter varieties, showed long vegetative period and high overwintering (97.5–100 %), in contrast to four forms made from spring collection accessions – Ukro, Kvadro, Uliana and Lotas. Their index of winter survival varies from 37.5 (Ukro) to 80 (Lotas) %. The indexes of volume grain weight, the mass of 1000 kernels, the length of the culm, the number of spikelets increased, but the indexes of the number of kernels, the length of spike decreased after autumn sowing compared to spring one in all studied forms (except for Ukro k-3644). The number of productive stems of plants of three triticale forms: Tsekad 90/5, Sirs 57/2/4 and Kvadro k-4073 after autumn sowing and overwintering was significantly higher than that after spring sowing. The plants of the other three forms on the contrary had more calms after spring sowing. Grain productivity of Tsekad 90/5 and Sears 57/2/4 was significantly higher

Сибирский научно-исследовательский институт растениеводства и селекции – филиал Федерального исследовательского центра Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, р.п. Краснообск, Новосибирская область, Россия
Siberian Research Institute of Plant Production and Breeding – Branch of the Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Krasnoobsk, Novosibirsk region, Russia

 petstep@ngs.ru

 © Стёпочкин П.И., Ермошкина Н.Н., 2023

after autumn sowing than one after spring sowing. Grain productivity index was higher after spring sowing than after autumn sowing of four forms made from spring collection accessions. Thus, the facultative forms of triticale made from winter varieties show the best indexes of selection valuable traits after autumn sowing, but the facultative forms made from spring collection triticale lines show the best indexes of these traits after spring sowing.

Key words: facultative form; triticale; autumn, spring sowing; overwintering; trait.

For citation: Stepochkin P.I., Ermoshkina N.N. Study of facultative forms of Triticale after autumn and spring planting. *Pisma v Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Letters to Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2023;9(2):81-85. DOI 10.18699/LettersVJ-2023-9-10 (in Russian)

Acknowledgements: This work was supported by the budget project of IGG SB RAS FWNR-2022-0018 in part of field trial and experimental measurements.

Введение

Злаковые культуры, к которым относится и тритикале, могут иметь озимый, яровой, а также альтернативный тип развития, при котором растения могут переходить к генеративному развитию при возделывании и по озимой, и по яровой технологии. Озимым культурам для перехода к генеративному развитию необходимо пройти стадию яровизации, т. е. подвергнуться воздействию низких положительных температур в течение нескольких недель. Яровым растениям это не требуется. Растения альтернативного типа развития, так называемые факультативные формы, могут проходить все фазы развития как при осеннем, так и весеннем севе (Зайцева, 2015).

Факультативные формы – удобный объект изучения влияния образа жизни растений при осеннем или весеннем севе на урожай зерна и другие хозяйственно полезные признаки. Фактически генотип растения попадает в контрастные условия проявления действия генов *VRN* (*response to vernalization*). Продукты деятельности этих генов регулируют переход к генеративной фазе развития растения (Yan et al., 2003, 2004, 2006; Yoshida et al., 2010). Ген *VRN1* непосредственно ответствен за выработку в апикальной меристеме проростка семени транскрипционных факторов, определяющих переход растения от вегетативной к генеративной фазе развития (Yan et al., 2003). Ортологи этого гена *VRN-A1*, *VRN-B1* и *VRN-D1* локализованы у мягкой пшеницы в длинных плечах гомеологичных хромосом пятой группы в геномах A, B и D соответственно (Law et al., 1976). У ржи ген *VRN-R1* находится в хромосоме 5RL (Plaschke et al., 1993). Озимые растения несут рецессивные аллели этих генов. Есть доказательства того, что яровизация растений с рецессивными аллелями этих генов вызывает деметилирование их ДНК, приводящее к генеративному развитию и цветению растений (Sherman, Talbert, 2002). Доминантные аллели любого из этих генов обеспечивают яровым растениям прохождение всех фаз развития без необходимости длительной обработки низкими положительными температурами (Nowak et al., 2014).

У факультативных форм развитие растений может определяться активностью доминантных аллелей гена *VRN-B1* (Стелямах, 1985) или доминантного аллеля *VRN-D1b*, который возник вследствие единичной нуклеотидной мутации в промоторном участке гена *VRN-D1a* (Zhang et al., 2012). В результате этого растения способны переходить к генеративному развитию при весеннем севе. При осеннем севе действие доминантных аллелей этих генов притормажива-

ется, и растения уходят в зиму по типу озимых форм. По некоторым источникам, факультативные формы тритикале более продуктивны, чем озимые, при тех же сроках сева (Mazurenko et al., 2020). Целесообразность выращивания факультативных форм тритикале при весеннем или осеннем севе решается экспериментально.

Цель данной работы – определение способа сева факультативных форм тритикале, при котором они лучше реализовывают положительные свойства и потенциал продуктивности в условиях Новосибирской области.

Материал и методы

Исследование проводили с 2018 по 2021 г. в лесостепи Новосибирской области в СибНИИРС – филиале ИЦиГ СО РАН. Полевые опыты закладывали посевом тритикале по черному пару на делянках, расположенных согласно принятой методике полевого опыта (Доспехов, 1985). Климат Новосибирской области континентальный, с суровой продолжительной зимой и коротким и часто засушливым летом. В 2018–2020 гг. для высеванных осенью тритикале была умеренно теплая погода с чередованием высоких температур воздуха с заморозками при продолжительной осенней вегетации (до второй декады октября). В сентябре среднемесячная температура воздуха соответствовала уровню среднеголетних данных – от +10.8 до +11.0 °С. В 2018 г. зафиксировано оптимальное количество осадков (113 %), в 2019 и 2020 гг. отмечено избыточное количество осадков – 175 и 163 % соответственно. В зимний период снежный покров составил от 56 до 67 см, а минимальная температура почвы на глубине узла кущения растений достигала –11 °С. Существенный недобор осадков наблюдался в 2021 г. (68 %), тогда как в 2019 и 2020 гг. зафиксирована дождливая погода – 126 и 154 % соответственно. В июне и июле среднесуточная температура воздуха была на уровне среднеголетних значений. В 2019 и 2020 гг. в июне отмечен дефицит осадков (44–46 %), а в июле, наоборот, избыток (128–147 %). Иначе сложились условия в 2021 г.: в июне количество осадков было больше (133 %), а в июле меньше (33 %). Осенний и весенний сев проводили по чистому пару в оптимальные сроки сева с нормой высева 5 млн всхожих семян на 1 га. Исходным материалом являлись 10 яровых форм пшенично-ржаных амфидиплоидов из мировой коллекции ВИР – Укро, Ровня, Квадро, Арсенал, Русло, Карго, Лотас, Норманн, Ульяна, Узор, два озимых сорта – Цекад 90, Сирс 57 и две факультативные формы тритикале – Цекад 90/5, Сирс 57/2/4. Факультативные тритикале, пере-

Таблица 1. Перезимовка (%) в 2020 и 2021 гг. форм тритикале альтернативного типа развития
Table 1. Winter survival (%) in 2020 and 2021 of triticale forms of alternative development

Год	Сирс 57/2/4	Цекад 90/5	Лотас (к-3889)	Ульяна (к-3887)	Квадро (к-4073)	Укро (к-3644)
2020	100	95	70	65	60	40
2021	100	100	90	80	75	35
Среднее	100	97.5	80	72.5	67.5	37.5

Таблица 2. Морфологические признаки вызревших растений факультативных форм тритикале после перезимовки и весеннего сева в 2021 г.

Table 2. Morphological traits of ripe plants of facultative triticale forms after winter survival and after spring sowing in 2021

Тритикале	Вегетационный период, сут	Число стеблей, шт. / 0.1 м ²	Длина соломины, см	Длина колоса, см	Число колосков / 1 см колоса
Цекад 90/5 (В)	92	22.2 ± 1.5	81 ± 2	12.4 ± 0.4*	2.61 ± 0.07
Цекад 90/5 (О)	126	27.4 ± 0.7*	95 ± 2*	11.1 ± 0.4	2.77 ± 0.10
Сирс 57/2/4 (В)	93	31.0 ± 1.3	76 ± 4	11.3 ± 0.6	2.71 ± 0.14
Сирс 57/2/4 (О)	126	42.2 ± 0.9*	95 ± 3*	10.6 ± 0.3	2.73 ± 0.06
Квадро (к-4073) (В)	82	20.8 ± 2.6	86 ± 3	13.1 ± 0.7*	1.86 ± 0.10
Квадро (к-4073) (О)	114	31.2 ± 1.8*	110 ± 4*	9.4 ± 0.2	2.37 ± 0.10*
Ульяна (к-3887) (В)	82	22.4 ± 1.3	93 ± 5	12.0 ± 0.8	2.16 ± 0.07
Ульяна (к-3887) (О)	118	20.8 ± 0.9	115 ± 3*	10.1 ± 0.7	2.67 ± 0.10*
Укро (к-3644) (В)	80	26.4 ± 0.7*	105 ± 3	10.6 ± 0.3	2.31 ± 0.08
Укро (к-3644) (О)	122	11.6 ± 0.9	108 ± 3	11.4 ± 0.7	2.34 ± 0.12
Лотас (к-3889) (В)	85	28.6 ± 1.4*	85 ± 5	11.9 ± 0.4	2.19 ± 0.05
Лотас (к-3889) (О)	118	24.2 ± 0.8	113 ± 5*	11.0 ± 0.5	2.38 ± 0.08

Примечание. Здесь и далее в табл. 3: О – перезимовавшая форма после осеннего сева; В – форма после весеннего сева. * достоверно при $p < 0.05$.

шедшие к генеративному развитию, возникли при весеннем севе в 2007 г. в популяциях озимых сортов Цекад 90 и Сирс 57 с частотой 11/2145000 и 7/1744400 соответственно (Стёпочкин, 2005). Так, получены две факультативные формы – Цекад 90/5 и Сирс 57/2/4, способные давать урожай зерна как при весеннем, так и осеннем севе.

Осенью 2018 г. высевали 10 яровых форм пшенично-ржаных амфидиплоидов, два озимых сорта и две факультативные формы тритикале на площади делянок 2 м². Перезимовавшие в 2019 г. формы посеяны вновь 2 сентября 2020 г. В 2021 г. проводили структурный анализ растений форм, перезимовавших весной 2019 г. и посеянных осенью в первых числах сентября 2020 г. и весной в середине мая 2021 г. на делянках 2 м² с одинаковой нормой посева – 500 зерен на 1 м². Размещение делянок и опыты выполняли по методике полевого опыта (Доспехов, 1985). Фенологические наблюдения проводили в полевых условиях, определение структуры урожая – в лабораторных. Результаты исследования обрабатывали статистически с помощью t -критерия Стьюдента (Доспехов, 1985).

Результаты и обсуждение

В 2019 г. перезимовали только растения коллекционных форм Укро (к-3644), Квадро (к-4073), Ульяна (к-3887), Лотас (к-3889) и факультативные тритикале Цекад 90/5, Сирс 57/2/4. В последующие два года средний показатель их перезимовки был разным: факультативные формы – 100 %, Лотас – 80 %, Ульяна – 72.5 %, Квадро – 67.5 %, Укро – 37.5 % (табл. 1).

Длительность вегетационного периода от всходов до полного созревания зерен как после весеннего, так и после осеннего (за вычетом суток зимнего анабиоза растений) сева у двух факультативных форм Сирс 57/2/4 и Цекад 90/5 гораздо выше, чем у четырех остальных форм (табл. 2). Длительность вегетационного периода у перезимовавших форм складывалась из числа суток от всходов растений в первой декаде сентября до прекращения вегетации и ухода в зиму в начале октября (30–35 сут) и от начала весенней вегетации во второй декаде апреля до полного созревания растений во второй – третьей декаде июля (80–90 сут). Полное созревание растений тритикале,

Таблица 3. Основные количественные признаки структуры урожая факультативных тритикале после перезимовки и весеннего сева в 2021 г.**Table 3.** The main quantitative traits of the yield structure of the facultative triticale after overwintering and spring sowing in 2021

Тритикале	Число зерен с колоса, шт.	Масса 1000 зерен, г	Натура зерна, г/л	Урожайность, г/м ²
Цекад 90/5 (В)	113 ± 12*	27 ± 3	571 ± 31	688 ± 26
Цекад 90/5 (О)	60 ± 5	45 ± 3*	749 ± 6*	746 ± 21
С 57/2/4 (В)	84 ± 10*	25 ± 4	567 ± 27	662 ± 29
С 57/2/4 (О)	48 ± 5	39 ± 2*	697 ± 8*	782 ± 30*
Квадро (к-4073) (В)	89 ± 10*	49 ± 6	696 ± 33	898 ± 30*
Квадро (к-4073) (О)	48 ± 4	52 ± 2	797 ± 10*	774 ± 26
Ульяна (к-3887) (В)	76 ± 12	42 ± 6	698 ± 29	728 ± 31
Ульяна (к-3887) (О)	61 ± 8	53 ± 2	782 ± 8*	672 ± 45
Укро (к-3644) (В)	67 ± 5	53 ± 3	752 ± 11	922 ± 47**
Укро (к-3644) (О)	60 ± 7	51 ± 2	757 ± 75	356 ± 23
Лотас (к-3889) (В)	74 ± 9	39 ± 3	649 ± 19	808 ± 30
Лотас (к-3889) (О)	55 ± 5	57 ± 3*	754 ± 17*	766 ± 24

высеянных в первой декаде мая, было в начале – середине августа.

Все формы осеннего сева, по сравнению с весенним, увеличили длину соломины и число колосков в колосе (см. табл. 2), при этом длина колоса у них (кроме Укро) уменьшилась. В результате этого колос у форм тритикале после осеннего сева был плотнее, чем после весеннего. Число стеблей на растение у перезимовавших форм Цекад 90/5, Сирс 57/2/4 и Квадро было больше, чем у этих же форм, высеванных весной. У коллекционных форм Укро, Ульяна и Лотас, напротив, было больше стеблей у растений при весеннем севе, чем при осеннем.

В основном масса 1000 зерен и натура зерна у перезимовавших форм осеннего сева характеризовались более высокими показателями, чем у этих же форм после весеннего сева, но число зерен с колоса было меньше (табл. 3). Селекционные формы Цекад 90/5 и Сирс 57/2/4 были более урожайными при осеннем севе, чем при весеннем.

Полученные из яровых коллекционных образцов зимующие формы можно считать условно факультативными из-за невысокой зимостойкости в условиях сибирского региона. Слабая перезимовка растений повлияла на их невысокую урожайность. Самый слабозимостойкий из всех изученных тритикале Укро при осеннем севе показал наиболее низкую урожайность, но при яровом севе он по этому признаку превзошел все остальные изученные формы. Видимо, разные генетические системы определили альтернативный тип развития растений у форм, полученных из озимых популяций и яровых.

Те факультативные формы, которые выделены из озимых популяций, оказались и самыми зимостойкими. После осеннего сева их урожайность выше, чем после весеннего. При весеннем севе в тех же условиях выращивания у них более длительный вегетационный период, чем у коллекционных

форм. Возможно, это связано с активностью аллелей гена *VRN-B1*. В научной литературе представлены сообщения о том, что альтернативный тип развития растений может быть проявлением некоторых доминантных аллелей гена *VRN-B1* (Стельмах, 1985) или доминантного аллеля *VRN-D1b*, возникающего в результате единичной нуклеотидной мутации в промоторном участке гена *VRN-D1a* (Zhang et al., 2012).

По нашим наблюдениям, факультативные формы тритикале, выделенные из озимых популяций, не отличаются ни по морфологическим признакам, ни по перезимовке, ни по продуктивности от исходных озимых форм. Другие исследования включают данные, согласно которым факультативные формы даже более урожайные, чем озимые, при тех же условиях выращивания (Mazurenko et al., 2020).

Заключение

Данные представленного исследования указывают на то, что у факультативных форм тритикале, созданных из озимых сортов, лучшие показатели селекционно ценных признаков проявляются после осеннего сева, а у факультативных форм, созданных из яровых коллекционных форм, – после весеннего сева.

Список литературы / References

- Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). М., 1985.
 [Dospikhov B.A. Field experiment technique (with the basics of statistical processing of research results). Moscow, 1985. (in Russian)]
- Зайцева О.И., Лемеш В.А. Аллельный состав генов *VRN-A1*, *VRN-B1*, и *VRN-B3* у линий удвоенных гаплоидов гексаплоидной тритикале. *Генетика*. 2015;51(7):766-774. DOI 10.7868/S0016675815070140.
 [Zaitseva O.I., Lemesh V.A. Allelic composition in the *VRN-A1*, *VRN-B1*, and *VRN-B3* genes of double haploid lines of hexaploid triticale. *Russian Journal of Genetics*. 2015;51(7):653-660. DOI 10.1134/S1022795415070145.]

- Стельмах А.Ф. Генотип типичных двуручек мягкой пшеницы по локусам *VRN1-3* и *Ppd1-3*. *Научно-технический бюллетень Всесоюзного селекционно-генетического института*. 1985;56(2): 15-20.
- [Stelmakh A.F. Genotype of typical facultative common wheat with loci *VRN1-3* and *Ppd1-3*. *Nauchno-tekhicheskiy Byulleten' Vsesoyuznogo Seleksionno-Geneticheskogo Instituta*. 1985;56(2): 15-20. (in Russian)]
- Стёпочкин П.И. Изучение факторов, влияющих на частоту возникновения яровых растений в популяциях озимой тритикале. *Доклады РАСХН*. 2005;(2):3-5.
- [Stepochkin P.I. Study of the factors influencing spring plants appearance frequency in the populations of winter triticales. *Doklady Rossiyskoy Akademii Selskokhozyaystvennykh Nauk = Proceedings of the Russian Academy of Agricultural Sciences*. 2005;(2):3-5. (in Russian)]
- Law C.N., Worland A.J., Giorgi B. The genetic control of ear-emergence time by chromosomes 5A and 5D of wheat. *Heredity*. 1976;1(36):49-58. DOI 10.1038/hdy.1976.5.
- Mazurenko B., Kalenska S., Honchar L., Novytska N. Grain yield response of facultative and winter triticale for late autumn sowing in different weather conditions. *Agron. Res.* 2020;18(1):183-193. DOI 10.15159/AR.20.008.
- Nowak M., Leśniowska-Nowak J., Zapalska M., Banaszak Z., Kondracka K., Dudziak K., Kowalczyk K. Analysis of *VRN1* gene in triticale and common wheat genetic background. *Sci. Agric.* 2014;71(5):380-386. DOI 10.1590/0103-9016-2013-0254.
- Plaschke J., Börner A., Xie D.X., Koeber R.M.D., Schlegel R., Gale M.D. RFLP mapping of genes affecting plant height and growth habit in rye. *Theor. Appl. Genet.* 1993;85(8):1049-1054. DOI 10.1007/BF00215046.
- Sherman J.D., Talbert L.E. Vernalization-induced changes of the DNA methylation pattern in winter wheat. *Genome*. 2002;45(2):253-260. DOI 10.1139/g01-147.
- Yan L., Loukoianov A., Tranquilli G., Helguera M., Fahima T., Dubcovsky J. Positional cloning of the wheat vernalization gene *VRN1*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2003;100(10):6263-6268. DOI 10.1073/pnas.0937399100.
- Yan L., Loukoianov A., Blechl A., Tranquilli G., Ramakrishna W., San-Miguel P., Bennetzen J.L., Echenique V., Dubcovsky J. The wheat *VRN2* gene is a flowering repressor down-regulated by vernalization. *Science*. 2004;5664(303):1640-1644. DOI 10.1126/science.1094305.
- 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. USA*. 2006;103(51):19581-19586. DOI 10.1073/pnas.0607142103.
- 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;120(3):543-552. DOI 10.1007/s00122-009-1174-3.
- Zhang J., Wang Y., Wu S., Yang J., Liu H., Zhou Y. A single nucleotide polymorphism at the *VRN-D1* promoter region in common wheat is associated with vernalization response. *Theor. Appl. Genet.* 2012;125(8):1697-1704. DOI 10.1007/s00122-012-1946-z.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 20.01.2023. После доработки 11.04.2023. Принята к публикации 18.04.2023.

 pismavavilov.ru

DOI 10.18699/LettersVJ-2023-9-11

Оригинальное исследование

Использование молекулярных маркеров в селекции мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) с различной антоциановой окраской зерновок

Е.И. Гордеева¹ ✉, О.Ю. Шоева ¹, В.П. Шаманин ², Е.К. Хлесткина ^{1,3}

Аннотация: Для ускорения получения новых сортов мягкой пшеницы, накапливающих антоциановые соединения в зерне, ранее нами разработаны внутригенные ДНК-маркеры к регуляторным генам *Pp* и *Ba*, контролирующим биосинтез антоцианов в перикарпе и алейроновом слое зерновки соответственно. В настоящей работе эти маркеры совместно со сцепленными с целевыми микросателлитными маркерами апробированы при создании линий мягкой пшеницы на основе сорта Элемент 22 и селекционной линии BW49880, накапливающих антоцианы в перикарпе, алейроне и в обоих перечисленных слоях зерновки одновременно. В качестве доноров антоциановой пигментации использованы изогенные линии с окрашенными зерновками, созданные ранее на генетическом фоне сорта Саратовская 29. Оценено суммарное содержание антоцианов в цельнозерновой муке данных линий. Этот показатель зависел от генотипа, увеличиваясь в ряду: краснозерный < фиолетовозерный < голубозерный < чернозерный; за исключением фиолетовозерной линии, полученной на основе BW49880 (накапливающей одновременно Zn) и достоверно не отличавшейся от чернозерных линий. Обсуждается применение полученных линий в качестве перспективных доноров генов биосинтеза антоцианов для создания новых сортов пшеницы с повышенным содержанием антоцианов.

Ключевые слова: мягкая пшеница; антоцианы; селекция; молекулярные маркеры.

Для цитирования: Гордеева Е.И., Шоева О.Ю., Шаманин В.П., Хлесткина Е.К. Использование молекулярных маркеров в селекции мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) с различной антоциановой окраской зерновок. *Письма в Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2023;9(2):86-99. DOI 10.18699/LettersVJ-2023-9-11

Благодарности: Исследование поддержано бюджетным проектом ИЦИГ СО РАН FWN-2022-0017 и Министерством науки и высшего образования РФ (соглашение № 075-15-2021-534 от 28.05.2021).

Original article

The molecular markers applying in breeding of spring bread wheat (*Triticum aestivum* L.) lines with different anthocyanin coloration of the grains


Е.И. Gordeeva¹ ✉, О.Ю. Shoeva ¹, В.П. Shamanin ², Е.К. Khlestkina ^{1,3}


Abstract: To accelerate breeding new varieties of bread wheat that accumulate anthocyanins in grain, we have previously developed intragenic DNA markers to the regulatory genes *Pp* and *Ba* controlling anthocyanin biosynthesis in pericarp and aleurone layer of grain, respectively. In the current work these markers together with the linked microsatellite markers were tested in creation of bread wheat lines, accumulating anthocyanins in the pericarp, aleurone, and in both of these grain layers simultaneously, based on variety Element 22 and breeding line BW49880. The isogenic lines with colored grains created earlier on the genetic background of variety Saratovskaya 29 were used as donors of anthocyanin pigmentation. The total anthocyanin content in whole grain flour extracts of fifteen lines, differing in the color of the grain, was estimated. This index depended on the genotype, increasing in the series: red-grain < purple-

¹ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия
Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

² Омский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина, Омск, Россия
P.A. Stolypin Omsk State Agrarian University, Omsk, Russia

³ Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР), Санкт-Петербург, Россия
N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), St. Petersburg, Russia

 elgordeeva@bionet.nsc.ru

 © Гордеева Е.И., Шоева О.Ю., Шаманин В.П., Хлесткина Е.К., 2023

grain < blue-grain < black-grain; with the exception of purple-grain line obtained based on BW49880 (accumulating Zn at the same time) and did not differ significantly from the black-grain lines. The paper discusses promising donors of anthocyanin biosynthesis genes for the creation of new anthocyanin-rich wheat varieties. The usage of the obtained lines as promising anthocyanin biosynthesis gene donors for creating new anthocyanin-rich wheat varieties is discussed.

Key words: spring bread wheat; anthocyanins; breeding; molecular markers.

For citation: Gordeeva E.I., Shoeva O.Y., Shamanin V.P., Khlestkina E.K. The molecular markers applying in breeding of spring bread wheat (*Triticum aestivum* L.) lines with different anthocyanin coloration of the grains. *Pisma v Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Letters to Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2023;9(2):86-99. DOI 10.18699/LettersVJ-2023-9-11 (in Russian)

Введение

Антоцианы – растительные полифенольные пигменты, накапливающиеся в вегетативных и генеративных органах растений и выполняющие защитные функции в условиях биотического и абиотического стрессов (Хлесткина и др., 2012, Landi, 2015). Адаптационные свойства этих соединений связаны в первую очередь с их высокой антиоксидантной активностью благодаря наличию реакционноспособных гидроксильных групп, способности к реакциям метилирования, метаксилирования, алкилирования, гликозилирования и хелатирования металлов переменной валентности – Fe, Zn, Mn, Cu (Запрометов, 1993). В настоящее время доказана польза антоцианов для здоровья человека (Юдина и др., 2021; Dwivedi et al., 2022).

Мягкую пшеницу (*Triticum aestivum* L., $2n = 42$, геном BBAADD) в последнее время все чаще рассматривают в качестве функционального пищевого продукта, выступающего источником не только простых и сложных углеводов, а также белков, пищевых волокон, минералов и различных фенольных соединений, среди которых выделяется группа антоциановых соединений (Wang et al., 2020). В зерновках мягкой пшеницы антоциановые соединения могут накапливаться в перикарпе (плодовой оболочке) и алейроновом слое эндосперма.

Гены, определяющие антоциановую пигментацию различных органов растений пшеницы, картированы, и их белковые продукты идентифицированы как транскрипционные факторы, относящиеся к R2R3-MYB, bHLH и WD40, которые объединяются в комплекс MYB – bHLH – WD (MBW), регулирующий экспрессию структурных генов, кодирующих ферменты метаболического пути биосинтеза антоцианов (Lap, 2021).

Биосинтез антоцианов в перикарпе происходит под контролем трех комплементарных взаимодействующих генов *Pp* (*Purple pericarp* – пурпурный околоплодник) (Zeven, 1991). Ранее с помощью моносомного анализа гены *Pp* были локализованы на хромосомах 7B (*Pp1*), 6A (*Pp2*) и 2A (*Pp3*) (Arbuzova et al., 1998; Arbuzova, Maystrenko, 2000). Продукт гена *Pp2* белок WD40 является универсальным фактором широкого спектра действия, аллельного полиморфизма этого гена не выявлено (Стрыгина, Хлесткина, 2019). Ключевой ген *Pp3*, картированный на хромосоме 2A, и минимум один из трех гомеологичных генов *Pp-1*, картированных на хромосомах 7-й гомеологической группы, совместно запускают биосинтез антоцианов и их накопление в перикарпе зерновок пшеницы (Хлесткина и др., 2014).

В геноме мягкой пшеницы установлена нуклеотидная последовательность гена *TaMyc1* (синоним *Pp3*), показана его

тканеспецифическая транскрипционная активность в окрашенном перикарпе зерновок (Shoeva et al., 2014). Данный ген кодирует транскрипционный фактор с доменом bHLH и ортологичен генам *Lc* и *Rb*, определяющим, соответственно, антоциановую окраску зерна кукурузы и риса (Ludwig et al., 1989; Wang, Shu, 2007). Выявлено наличие аллелей у гена *TaMyc1*. Показано, что в промоторе данного гена у окрашенных генотипов присутствует шесть tandemных повторов длиной 261 нуклеотид каждый (аллель *TaMyc1p*), тогда как у неокрашенных сортов обнаружен один такой повтор (*TaMyc1w*) (Zong et al., 2017; Jiang et al., 2018). Присутствие доминантного аллеля *TaMyc1p* связано с фиолетовой окраской зерновок не только у 15 исследованных сортов мягкой пшеницы, но также у образцов тетраплоидных пшениц *T. durum*, *T. polanicum*, *T. turgidum*, собранных в Эфиопии и Эритрее (Zong et al., 2017).

Второй ген *Pp-1*, необходимый для формирования признака фиолетовой окраски зерна, был длительное время неизвестен. С помощью сегрегационного анализа установлена его локализация в кластере генов, контролирующим фиолетовую окраску вегетативных органов: колеоптиле (*Rc* – *Red coleoptile*), стебля (*Pc* – *Purple culm*), листового влагалища (*Pls* – *Purple leaf sheath*), ушек листа (*Ra* – *Red auricles*), чешуй колоса (*Pg* – *Purple glume*) и пыльников (*Pan* – *Purple anthers*) (Хлесткина, 2012). Данный кластер генов локализован на коротком плече хромосом 7-й гомеологической группы с геном *Mpc1* (MYB protein C1), ортологичным гену *C1* кукурузы, который кодирует регуляторный фактор с доменом R2R3-MYB и контролирует окраску вегетативных органов кукурузы (Li et al., 1999; Хлесткина, 2012). Позднее выделены нуклеотидные последовательности гена *TaC1* (синонимы *TaMpc1*, *Rc-1*), контролирующего окраску колеоптиле у пшеницы (Himi, Taketa, 2015). Показано участие этого гена в контроле окраски перикарпа зерна пшеницы (*Rc-1 = Pp-1*) (Jiang et al., 2018; Gordeeva et al., 2020).

В алейроновом слое эндосперма зерновки пшеницы с голубым (сероватым или зеленоватым) фенотипом биосинтез антоцианов контролируют доминантные аллели генов *Ba* (*Blue aleurone*). Эти гены унаследованы мягкой пшеницей от близкородственных видов злаков в ходе межвидовой гибридизации (Zeven, 1991). Гены *Ba* идентифицированы у *Thipopyrum ponticum* (Podp.) Barkworth & D.R. Dewey (синоним *Agropyron elongatum* (Host) Beauv) (*Ba1*; Keppenne, Baenziger, 1990; Zheng et al., 2006), *Th. bessarabicum* (Savul. & Rayss) Á. Löve (*BaThb*; Shen et al., 2013), *T. monococcum* L. (*Ba2*; Dubcovsky et al., 1996), *T. boeoticum* Boiss. (*Ba2*; Singh et al., 2007). У линий мягкой пшеницы с голубой окраской зерна идентифицированы чужеродные транслокации в хромосомах 4-й

гомеологической группы или полное замещение хромосом данной группы (Zeven, 1991; Арбузова и др., 2012; Shen et al., 2013; Gordeeva et al., 2022). В геноме пшеницы, несущей интрогрессию от *Th. ponticum*, выявлена нуклеотидная последовательность гена *ThMyc4E*, контролирующего голубую окраску алейрона. Ген *ThMyc4E* кодирует транскрипционный фактор с доменом bHLH (Li et al., 2017).

Насыщение современных сортов мягкой пшеницы антоцианами возможно за счет переноса генов, контролирующих биосинтез антоцианов, от донорных линий/сортов в рекуррентные сорта с помощью гибридизации. Для повышения точности отбора нами разработаны внутригенные ДНК-маркеры *Pp1-diagnostic*, *Pp3-diagnostic*, *ThMyc4E-specific*, которые успешно использованы при создании набора окрашенных линий на основе сорта Саратовская 29, за исключением *Pp1-diagnostic* (Gordeeva et al., 2022).

Цель работы – апробация разработанных маркеров для генотипирования и создания линий мягкой пшеницы с повышенным содержанием антоцианов в зерновках на основе сибирского сорта Элемент 22 и перспективной селекционной линии BW49880, а также сравнительное исследование содержания антоцианов в зерновках полученных линий.

Материалы и методы

Растительный материал

Для получения набора окрашенных линий мягкой пшеницы в качестве исходных рекуррентных сортов/линий взяты Элемент 22 и BW49880. Элемент 22 является среднепозднеспелым современным сибирским сортом, характеризуется наличием остей, несет ржаную транслокацию 1AL:1RS с генами *Lr26/Sr31/Yr9/Pm8*, определяющими его устойчивость к патогенам Западно-Сибирского региона (Шаманин и др., 2020). Селекционная линия BW49880 характеризуется короткостебельностью, среднераннеспелая, имеет белые, с повышенным содержанием цинка зерновки (CIMMYT, <https://wgb.cimmyt.org>). По результатам полевого тестирования в условиях Западной Сибири данная линия показала высокую степень устойчивости к грибным заболеваниям растений пшеницы (Gordeeva et al., 2020).

Проведено скрещивание сорта Элемент 22 и линии BW49880 с фиолетовозерными изогенными линиями *i:S29Pp-D1Pp3^{P/PF}* (далее обозначены как *фC29^{P/PF}*) и параллельно с голубозерной замещенной линией *s:S29Ba14Th(4D)*, созданными ранее на генетической основе ярового сорта мягкой пшеницы Саратовская 29 и используемыми в качестве доноров доминантных аллелей генов *Pp-D1*, *Pp3* и *Ba1* соответственно (Arbuzova et al., 1998; Gordeeva et al., 2020, 2022). Отбор новых линий с антоциановым пигментом зерновок проводили в поколениях F_2 и BC_1F_2 после скрещивания и последующего беккросса родительским сортом Элемент 22 и линией BW49880. Отобранные фиолетово- и голубозерные линии скрещены друг с другом для получения чернозерных линий (рис. 1).

В качестве контрольных линий при молекулярном генотипировании использованы изогенные линии *фC29^P* и *фC29^{P/PF}* с интрогрессированными участками различной длины в хромосомы 2A и 7D от сортов Purple (P) и Purple Feed (PF) соответственно, несущих доминантные аллели генов

Pp3 и *Pp-D1*, и сорт Мерора – донор пырейной хромосомы 4Th. Помимо окраски зерновок мы дополнительно контролировали признак «остистость/безостистость» колоса, связанный с наличием доминантного гена *B1* (ингибитора остистости), локализованного на длинном плече хромосомы 5A, у сорта Саратовская 29 (Arbuzova et al., 1998).

Генотипирование ДНК

ДНК выделяли из молодых листьев родительских, донорных, контрольных сортов и линии, а также гибридов второго поколения (F_2), полученных при выполнении вышеуказанной селекционной схемы согласно ранее описанной методике (Plaschke et al., 1995). Выделенную ДНК диагностировали с помощью ПЦП с использованием внутригенных маркеров *Pp1-diagnostic*, *Pp3-diagnostic*, *ThMyc4E-specific*, разработанных нами к генам биосинтеза антоцианов *Pp-1*, *Pp3*, *Ba1* соответственно и сцепленных с ними полиморфных микросателлитных (SSR, simple sequence repeats) маркеров (табл. 1, Приложение).

Внутригенный маркер *Pp3-diagnostic* позволяет надежно различить доминантные и рецессивные аллели гена *Pp3* (Шоева и др., 2021). Внутригенный маркер *Pp1-diagnostic*, фланкирующий с двух сторон варибельный по длине ДНК единственный интрон гена *TaMyb1*, показывает наличие доминантного гена *Pp-D1* (*TaMyb1*) в интрогрессированном участке хромосомы 7DS. Данный маркер разработан с использованием известных нуклеотидных последовательностей аллелей гена *Rc* (синоним *Pp*) цветных изогенных линий пшеницы на основе сортов Chinese Spring и Новосибирская 67 (Коваль, 1997; Himi, Taketa, 2015). Маркер *ThMyc4E-specific* подтверждает наличие доминантного гена *Ba1* (*ThMyc4E*), локализованного в длинном плече хромосомы пырея 4Th, заместившей после гибридизации хромосому пшеницы 4B или 4D (Гордеева и др., 2022; Gordeeva et al., 2022). Для уточнения замещения хромосом и межсортного наследования хромосомных перестроек также применены SSR-маркеры серии *Xgwm* (Gatersleben Wheat Marker; Röder, 1998).

Полимеразную цепную реакцию (ПЦП) на выделенной из листьев ДНК проводили в реакционной смеси объемом 20 мкл в расчете: на 100 нг ДНК-матрицы (1 мкл) приходилось 67 мМ трис-НСl (рН 8,8), 1,8 мМ $MgCl_2$, 0,01 % Tween 20, 18 мМ $(NH_4)_2SO_4$, по 0,2 мМ каждого дНТФ, по 0,3 мкМ прямого и обратного специфических праймеров, 1 ед. ДНК-полимеразы Taq. Амплификацию выполняли в T100 Thermal Cycler (Bio-Rad Laboratories, Inc., Геркулес, Калифорния, США) по общепринятой методике: предденатурация – 2 мин при 94 °С, 45 циклов (денатурация – 1 мин при 94 °С, отжиг матрицы с праймерами – 1 мин при 53, 55 или 60 °С (см. табл. 1), полимеризация – 2 мин при 72 °С); достраивание ПЦП-фрагментов – 5 мин при 72 °С. Для режима TOCHDOWN после предденатурации, 2 мин при 94 °С, проведены 13 циклов (денатурация – 15 секунд при 94 °С, отжиг матрицы с праймерами – 30 секунд при 65 °С с понижением на 0,7 °С (цикл, полимеризация – 45 секунд при 72 °С)); 24 цикла (денатурация – 15 секунд при 94 °С, отжиг матрицы с праймерами – 30 секунд при 56 °С, полимеризация – 30 секунд при 72 °С) и стандартное завершение достраиванием ПЦП-фрагментов – 5 мин при 72 °С.

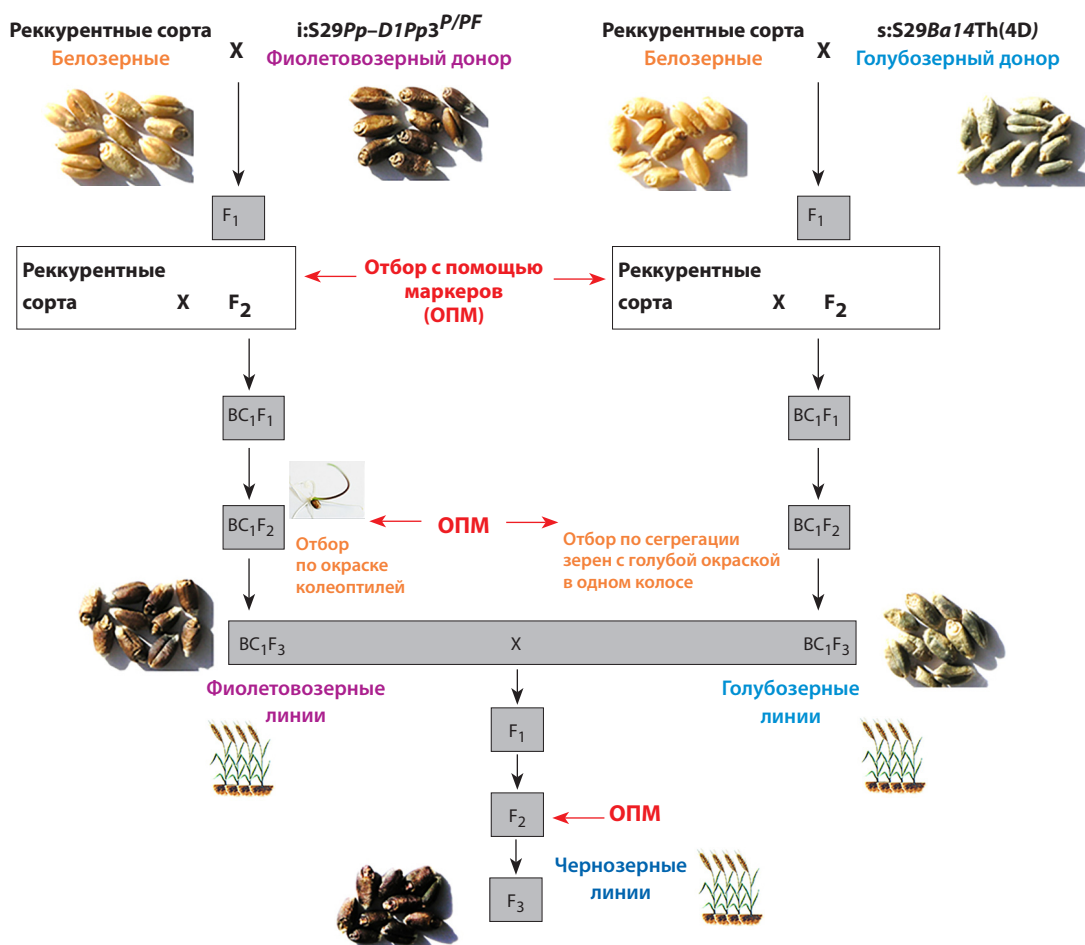


Рис. 1. Схема получения фиолетово-, голубо- и чернозерных линий пшеницы
Fig. 1. Scheme of the obtaining purple-, blue- and black-grained wheat lines

Для разделения продуктов ПЦР использовали 2 % агарозный гель (LE Agarose, Lonza Rockland, Inc., Рокленд, Мэн, США) и 5 % HR (High resolution) агарозный гель высокого разрешения NuAgarose™ HR Agarose (ACTGene, Inc., Писка-тауэй, Нью-Джерси, США), приготовленные на TAE-буфере (40мМ Трис-HCl pH 8.0, 20мМ ацетат натрия, 1мМ ЭДТА) с добавлением бромистого этидия. По 10–20 мкл реакционной смеси с продуктами ПЦР и добавлением 5 % глицерина, 0.05 % бромфенолового синего и 0.05 % ксиленцианола капали в карманы геля. В качестве маркера длины фрагментов ДНК использован 100 п.н. (ООО «МЕДИГЕН», Новосибирск, Россия). Электрофорез проходил в горизонтальной камере в течение 1–5 ч при напряжении 7 В/см. Фотографии в УФ-свете и анализ изображения делали с помощью системы документации гелей Molecular Imager® Gel DocTM XR+ System (Bio-Rad Laboratories, Inc., Геркулес, Калифорния, США).

Оценка суммарного содержания антоцианов в зерновках
Двадцать грамм зерна каждой линии перемалывали в лабораторной мельнице ЛЗМ-1 (ООО «Зернотехника», Москва, Россия). Для экстракции антоцианов 1 г цельнозерновой (с отрубями) муки гомогенизировали в 10 мл 1 % раствора HCl в метаноле, встряхивали и инкубировали при 4 °С в

течение 12 ч. После центрифугирования при 12 000 об/мин в течение 25 мин при 4 °С отбирали супернатант и измеряли плотность содержания антоцианов в растворе в спектрофотометре SmartSpec™ Plus (Bio-Rad Laboratories, Inc., Геркулес, Калифорния, США) при длине волны 530 и 700 нм. Скорректированное значение ($A_{530} - A_{700}$) использовали для расчета массовой концентрации по эквиваленту ацианидин-3-глюкозида (Cy-3-Glu) в микрограммах на грамм сухой массы материала образца (DW) согласно ранее описанной методике (Abdel-Aal, Hucl, 1999). Каждый образец анализировали в трех биологических повторностях. Для более точной оценки содержания антоцианов в зерновках измеряли массу тысячи зерен каждого образца в трех повторах. Достоверность различий между выборками оценивали с помощью *U*-критерия Манна-Уитни в программе Statistica 6 (StatSoft, Inc., Талса, Оклахома, США).

Результаты

Селекция линий пшеницы с окрашенными зерновками и их генотипирование

С помощью селекционной схемы, представленной на рис. 1, помимо набора линий на основе сорта Саратовская 29 (ли-

Таблица 1. Молекулярные маркеры, использованные в настоящей работе
Table 1. Molecular markers used for DNA analysis

Маркер	Локализация в хромосоме	Температура отжига, °С	Структура прямого и обратного праймеров [ссылка]	Размеры продуктов ПЦР, п.н.	
				S29/S29 ^P /S29 ^{PF}	4Th/4B/4D
<i>Pp3-diagnostic</i>	2A	Tdn 65–56	5'-AAGAAATGACACTTCGCCACAA-3' 5'-GGTGGGCTCTTCCTGGCAT-3' [патент № 2774444, Шоева и др., 2021]	429/398/398	
<i>Xgwm0294</i>	2A	55	5'-GGATTGGAGTTAAGAGAGAACCG-3' 5'-GCAGAGTGATCAATGCCAGA-3' [Röder et al., 1998]	90/90/102	
<i>Xgwm0312</i>	2A	60	5'-ATCGCATGATGCACGTAGAG-3' 5'-ACATGCATGCCTACCTAATGG-3' [Röder et al., 1998]	198/190/198	
<i>Pp1-diagnostic</i>	7D	Tdn 65–56	5'-ATGGGGAGGAGGGCGT-3' 5'-TGCCGAGC- GTGCTGTT-3' [данная работа]	478/434/434	–
<i>Xgwm0111</i>	7D	55	5'-TCTGTAGGCTCTCCGACTG-3' 5'-ACCTGATCAGATCCCACTCG-3' [Röder et al., 1998]	221/205/198	–
<i>Xgwm0437</i>	7D	50	5'-GATCAAGACTTTTGTATCTCTC-3' 5'-GAT- GTCCAACAGTTAGCTTA-3' [Röder et al., 1998]	100/110/100	
<i>Xgwm1002</i>	7D	60	IPK Gatersleben*	210/170/210	–
<i>ThMyc4E</i>	4E	Tdn 65–56, 15mMMgCl ₂	5'-GAAACAACAGGACCGAGCAG-3' 5'-CTT- GATGGCGTCAAACACTT-3' [патент № 2790186, Гордеева и др., 2022]	–	198/–/–
<i>Xgwm0251</i>	4B	50	5'-CAACTGGTTGCTACACAAGCA-3' 5'-GGGATGTCTGTTCCATCTTAG-3' [Röder et al., 1998]		–/210/–
<i>Xgwm0375</i>	4B	Tdn	5'-ATTGGCGACTCTAGCATATACG-3' 5'-GGGATGTCTGTTCCATCTTAGC-3' [Korzun et al., 1997]	–	–/180/–
<i>Xgwm0609</i>	4D	50	5'-GCGACATGACCATTTTGTG-3' 5'-GATAT- TAAATCTCTATGTGTG-3' [Röder et al., 1998]	–	–/–/120
<i>Xgwm0624</i>	4D	53	5'-TTGATATTAATCTCTCTATGTG-3' 5'-AATTTTATTGAGCTATGCG-3' [Röder et al., 1998]	–	–/–/120
<i>Xgwm4001</i>	4D	55	IPK Gatersleben*	–	–/–/260

* Последовательность праймеров можно получить по запросу у доктора М. Рёдера (IPK Gatersleben), структура других маркеров доступна в базе данных GrainGenes (<https://wheat.pw.usda.gov/GG3/>, по состоянию на 1 марта 2023 г.).

* The sequence of the primers is available upon request from Dr. M. Röder (IPK Gatersleben), and the structure of the other markers can be found in the GrainGenes database (<https://wheat.pw.usda.gov/GG3/>, accessed March 1, 2023).

нии 1–6), полученных ранее, созданы два новых набора окрашенных линий мягкой пшеницы на основе селекционной линии BW49880 (7–11) и сорта Элемент 22 (12–15) (табл. 2). В ходе отборов помимо оценки окраски колеоптиле, которая свидетельствовала о наличии доминантного аллеля (аллелей) генов *Pp-1*, использованы внутригенные и сцепленные с ними микросателлитные маркеры (см. табл. 1).

С помощью маркера *Pp3-diagnostic* получены ПЦР-продукты длиной 398 и 429 п.н., соответствующие доминантным и рецессивным аллелям гена *Pp3* соответственно

(рис. 2, слева). Микросателлитные маркеры *Xgwm0294* и *Xgwm0312* использовали для диагностики рекомбинантных фрагментов в хромосоме 2A. Стоит отметить, что интрогрессированный участок от сорта Purple короче, чем от Purple Feed (см. Приложение), и диагностические SSR-маркеры в линиях, несущих интрогрессию от сорта Purple, амплифицируют ПЦР-фрагмент, не отличающийся от такового сорта Саратовская 29. Применение маркера *Xgwm0294* совместно с маркером *Pp3-diagnostic* позволило выявить у линий 1–6, созданных на основе Саратовской 29, и линий 8, 10, 11 – на

Таблица 2. Образцы пшеницы, изученные в данной работе
Table 2. Wheat sample types used in this study

№	Короткое название	Сорт/линия (полное название)	Краткое описание	Родословная	Оригинатор	Литературный источник
1	C29	Саратовская 29 (cv. Saratovskaya 29, S29)	Краснозерный сорт	Альбидум 24 / Лютеценс 55/11	ФАНЦ Юго-Востока, Саратов	
2	фC29	i:S29Pp3 ^P Pp-D1 ^{PF}	Фиолетовозерная изогенная линия Саратовской 29	Саратовская 29 *8 / Purple // Саратовская 29 *8 / Purple Feed	ИЦиГ СО РАН, Новосибирск	Gordeeva et al., 2022
3	гC29-1	s:S29Ba14Th(4D)	Голубозерная линия Саратовской 29 с заменой хромосомы 4В	i:S29Pp3 ^P Pp-D1 ^{PF} / s:S29Ba14Th(4D)	ИЦиГ СО РАН, Новосибирск	Gordeeva et al., 2022
4	чC29-1	s:S29Ba14Th(4B) Pp3 ^P Pp-D1 ^{PF}	Чернозерная линия Саратовской 29 с заменой хромосомы 4В	i:S29Pp3 ^P Pp-D1 ^{PF} / s:S29Ba14Th(4D)	ИЦиГ СО РАН, Новосибирск	Gordeeva et al., 2022
5	гC29-2	s:S29Ba14Th(4D)	Голубозерная линия Саратовской 29 с заменой хромосомы 4D	Саратовская 29 *7 / Меропа	ИЦиГ СО РАН, Новосибирск	Gordeeva et al., 2021
6	чC29-2	s:S29Ba14Th(4D) Pp3 ^P Pp-D1 ^{PF}	Чернозерная линия Саратовской 29 с заменой хромосомы 4D	i:S29Pp3 ^P Pp-D1 ^{PF} / s:S29Ba14Th(4D)	ИЦиГ СО РАН, Новосибирск	Gordeeva et al., 2022
7	BW	BW49880	Белозерная линия BW49880, остистый колос	Villa Juarez F2009 / Solala // Wbl1 *2 / Brambling	СИММУТ, INT Мексика	https://wgb.cimmyt.org
8	фBW	l:BW49880Pp3Pp-D1 ^P	Фиолетовозерная линия BW49880	BW49880 *2 / i:S29Pp3Pp-D1 ^P	ИЦиГ СО РАН, Новосибирск	Gordeeva et al., 2020
9	гBW	s:BW49880Ba14Th(4D)	Голубозерная линия BW49880 с заменой хромосомы 4D, безостый колос	BW49880 *2 / s:S29Ba14Th(4D)	ИЦиГ СО РАН, Новосибирск	Настоящее исследование
10	чBW-1	s:BW49880Ba14Th(4D) Pp3Pp-D1 ^P B1 ^{S29}	Чернозерная линия BW49880 с заменой хромосомы 4D, безостый колос	l:BW49880Pp3Pp-D1 ^P / l:BW49880Ba14Th(4D)	ИЦиГ СО РАН, Новосибирск	Настоящее исследование
11	чBW-2	s:BW49880Ba14Th(4D) Pp3Pp-D1 ^P	Чернозерная линия BW49880 с заменой хромосомы 4D, остистый колос	l:BW49880Pp3Pp-D1 ^P / l:BW49880Ba14Th(4D)	ИЦиГ СО РАН, Новосибирск	Настоящее исследование
12	Эл22	Элемент 22 (cv. Element 22, El22)	Краснозерный сорт, остистый колос	(Гранит / Саратовская 29) // 3 [Эритросперум 59 // (Целинная 20 / Терция)]	Омский ГАУ, Омск	https://reestr.gossortrf.ru
13	фЭл22	l:El22Pp3Pp-D1 ^{PF}	Фиолетовозерная линия Элемента 22	Элемент 22 *2 / i:S29Pp3Pp-D1 ^{PF}	ИЦиГ СО РАН, Новосибирск	Gordeeva et al., 2020
14	гЭл22	s:El22Ba14Th(4D)	Голубозерная линия Элемента 22 с заменой хромосомы 4В	Элемент22 *2 / s:S29Ba14Th(4D)	ИЦиГ СО РАН, Новосибирск	Настоящее исследование
15	чЭл22	s:El22Ba14Th(4D) Pp3Pp-D1 ^{PF}	Чернозерная линия Элемента 22 с заменой хромосомы 4D 4Th(4D)	l:El22 Pp3Pp-D1 ^{PF} / s:El22Ba14Th(4D)	ИЦиГ СО РАН, Новосибирск	Настоящее исследование

Примечание. P – наследственный материал, переданный от сорта донора Purple (к-46990, Австралия), PF – от сорта Purple Feed (к-49426, Канада), 4Th – хромосомы от *Thinopyrum ponticum*, заместившие хромосомы мягкой пшеницы 4В или 4D; l: – линия, i: – изогенная линия, s: – линия с замещенными хромосомами.

Note. P – hereditary material passed down from the donor spring breeding line Purple (k-46990, Australia), PF – the one from the line Purple Feed (k-49426, Canada), 4Th – chromosomes from *Thinopyrum ponticum*, substituted wheat chromosomes 4B or 4D; l: – line; i: – isogenic line, s: – line with substituted chromosomes.

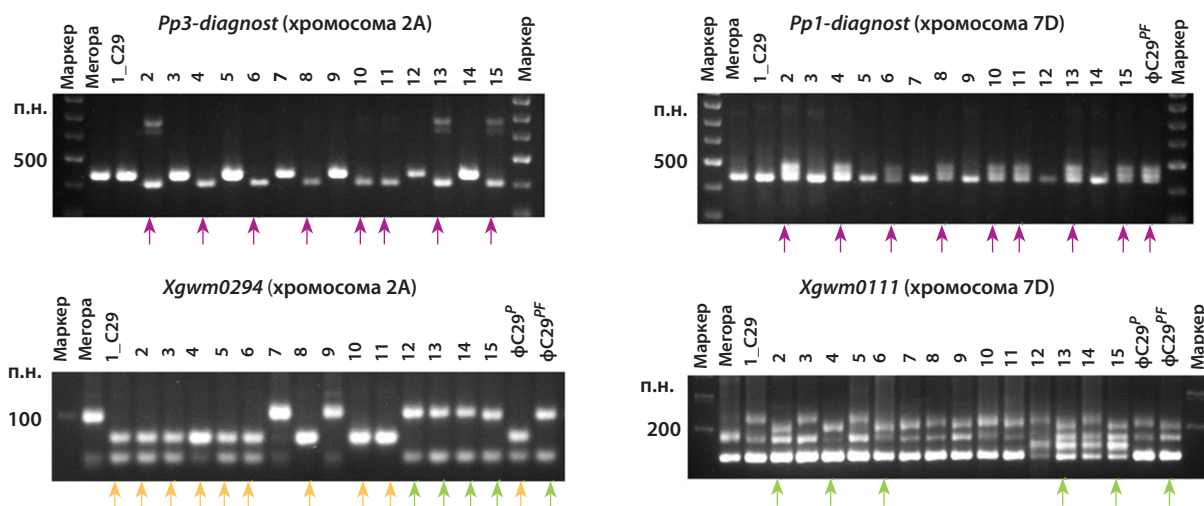


Рис. 2. Электрофореграммы продуктов ПЦР, полученных с помощью маркеров для диагностики генов *Pp3* и *Pp-D1*, контролирующих фиолетовую окраску зерновки пшеницы

Слева: маркер *Pp3-diagnostic* – фиолетовыми стрелками отмечены продукты ПЦР, соответствующие доминантным аллелям гена *Pp3*; маркер *Xgwm0294* для диагностики интрогрессии – оранжевыми стрелками указаны фрагменты ДНК, наследуемые от фиолетовозерной линии $\phi C29^P$, зелеными стрелками – от линии $\phi C29^{PF}$. Справа: маркер *Pp1-diagnostic* – фиолетовыми стрелками отмечены продукты ПЦР, соответствующие доминантным аллелям гена *Pp-D1*; маркер *Xgwm0111* для диагностики интрогрессии – зелеными стрелками указаны фрагменты ДНК, наследуемые от фиолетовозерной линии $\phi C29^{PF}$. Нумерация линий указана в табл. 2

Fig. 2. Electrophoregrams of the PCR products obtained by the markers to diagnosis of the *Pp3* and *Pp-D1* genes, controlling purple color of wheat grains

Left: marker *Pp3-diagnostic* – purple arrows indicate PCR products corresponding to dominant alleles of *Pp3* gene; marker *Xgwm0294* for introgression diagnosis – orange arrows indicate DNA fragments inherited from purple-grained isogenic line $i:S29^P$, green arrows – from $i:S29^{PF}$. Right: *Pp1-diagnostic* marker – purple arrows indicate PCR products corresponding to dominant alleles of the *Pp-D1* gene; marker *Xgwm0111* for introgression diagnosis – green arrows indicate DNA fragments inherited from the purple-grained isogenic line $i:S29^{PF}$. See the line numbering in Table 2

основе BW49880, короткие интрогрессированные участки на хромосоме 2A от сорта Purple, унаследованные от линии $\phi C29^P$ (оранжевые стрелки на рис. 2 слева). ПЦР-продукты, полученные с помощью маркера *Xgwm0294* на ДНК сорта Элемент 22 и созданных на его основе линий 12–15, не отличались от ПЦР-продукта, полученного на ДНК линии $\phi C29^{PF}$, несущей участок интрогрессии в хромосоме 2A, от сорта Purple Feed (зеленые стрелки на рис. 2 слева).

Разработанный внутригенный маркер *Pp1-diagnostic* позволял выявлять одновременно как доминантные, так и рецессивные аллели генов *Pp-1*, картированных в коротком плече каждой из хромосом 7A, 7B и 7D. Продукты ПЦР длиной 478 п.н., полученные с помощью амплификации ДНК голубозерных линий 3, 5, 9, 14 и родительских сортов-реципиентов Саратовская 29, Элемент 22 и линии BW49880, соответствовали рецессивным аллелям генов *Pp-A1* и *Pp-B1*, тогда как продукты ПЦР, амплифицируемые на ДНК фиолетово-, черnozерных линий 2, 4, 6, 8, 10, 11, 13, 15, и $\phi C29^{PF}$, имеющих антоциановую окраску coleoptилей, содержали помимо фрагментов длиной 478 п.н. более короткие фрагменты ДНК длиной 434 п.н., соответствующие доминантному аллелю гена *Pp-D1* (фиолетовые стрелки на рис. 2 справа). С помощью микросателлитных маркеров *Xgwm0044* и *Xgwm0111*, сцепленных с геном *Pp-D1*, диагностирован интрогрессированный фрагмент на хромосоме 7D. Более короткие продукты ПЦР маркера *Xgwm0111* показали наследование интрогрессии от сорта Purple Feed у линий 2, 4, 6,

13, 15, $\phi C29^{PF}$ (зеленые стрелки на рис. 2 справа). Интрогрессированный участок на хромосоме 7D от сорта Purple Feed короче, чем от Purple (см. Приложение), и диагностические SSR-маркеры *Xgwm0437* и *Xgwm1002* в линиях, наследующих интрогрессию от сорта Purple Feed, амплифицировали ПЦР-фрагменты, не отличающиеся от Саратовской 29.

После гибридизации и отбора растений в поколении 2 гибридов у голубо- и черnozерных линий 3, 4, 14 наблюдалось появление продуктов ПЦР маркера *ThMyc4E-specific* одновременно с отсутствием продуктов амплификации микросателлитного маркера *Xgwm0375*, локализованного на хромосомах пшеницы 4B (рис. 3, слева), тогда как у линий 5, 6, 9, 10, 11, 15 и сорта Мерора наличие ПЦР-продукта маркера *ThMyc4E-specific* сопровождалось отсутствием продуктов амплификации маркеров *Xgwm0624* и *Xgwm4001*, локализованных на хромосоме пшеницы 4D (см. рис. 3, справа), что свидетельствует о замещении пары пшеничных хромосом 4B или 4D парой ортологичных хромосом пырея 4Th.

Голубозерные линии на основе сорта Саратовская 29 с замещением хромосом 4B и 4D хромосомами пырея 4Th имели более щуплые зерновки и практически не отличались друг от друга. В голубозерной линии на основе сорта Элемент 22 произошло замещение хромосомы 4B, несмотря на то что донорная линия несла пару хромосом пырея 4Th вместо пары хромосом 4D. Зерна всех трех наборов отличающихся по цвету зерновок линий пшеницы представлены на рис. 4. Голубозерная (№ 9) и одна из черnozерных

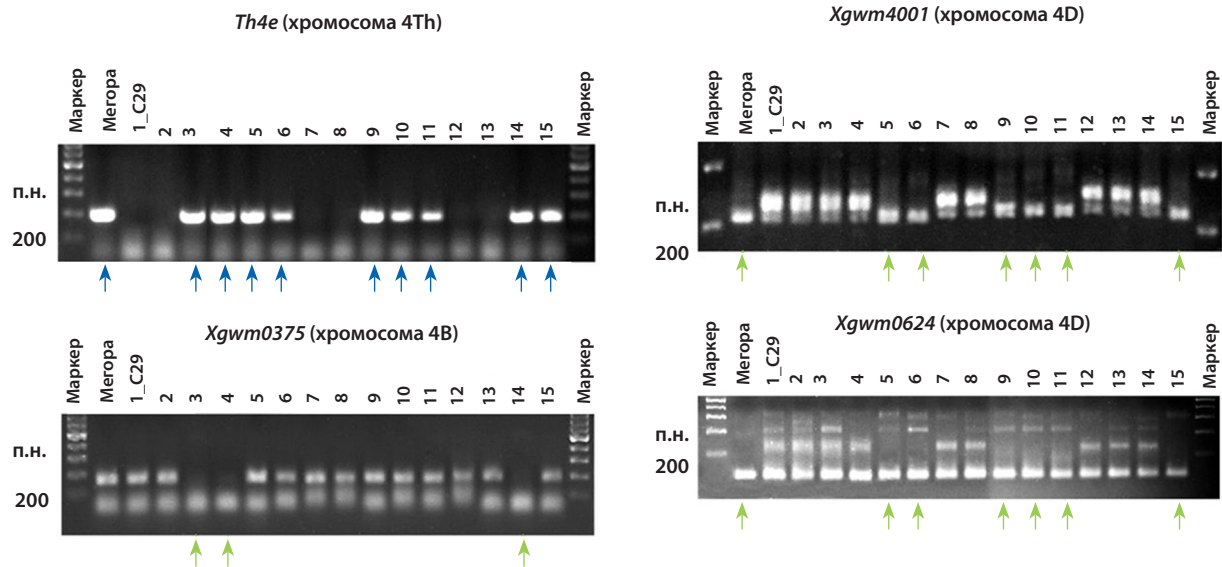


Рис. 3. Электрофореграммы продуктов ПЦР для определения генов голубой окраски зерновок мягкой пшеницы

Слева: маркер *ThMyc4E-specific* – синими стрелками отмечены продукты ПЦР, соответствующие хромосоме пырея 4Th; маркер *Xgwm0375* – зелеными стрелками отмечено отсутствие пары пшеничных хромосом 4B. Справа: маркеры *Xgwm4001* и *Xgwm0624* – зелеными стрелками отмечено отсутствие пары пшеничных хромосом 4D. Нумерация линий указана в табл. 2

Fig. 3. Electrophoregrams of the PCR products for determining the blue color genes in the wheat grains

Left: *ThMyc4E-specific* marker – blue arrows indicate PCR products corresponding to wheatgrass chromosome 4Th; SSR marker *Xgwm0375* – green arrows indicate the absence of wheat chromosome pair 4B. Right: SSR markers *Xgwm4001* and *Xgwm0624* – green arrows indicate the absence of wheat chromosome pair 4D. See Table 2 for line numbering

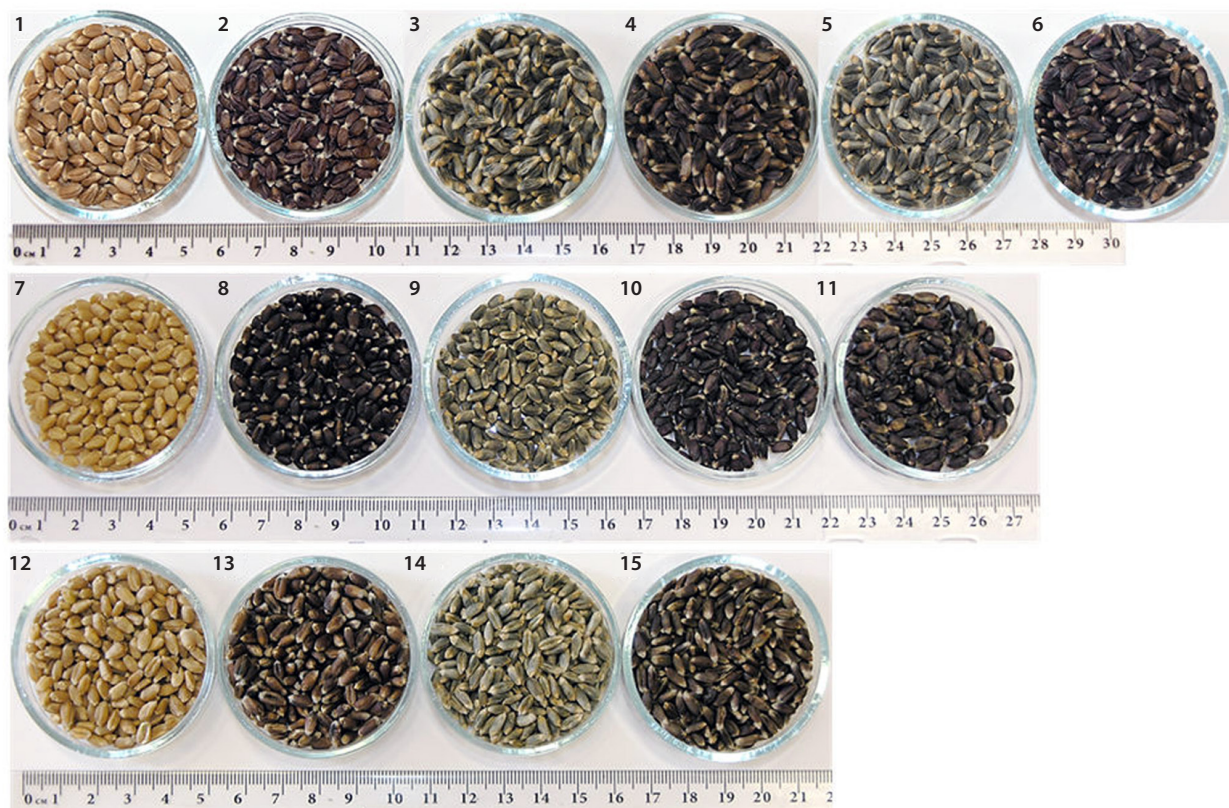


Рис. 4. Зерновки линий мягкой пшеницы с различной антоциановой окраской на основе сорта Саратовская 29 (BC₇₋₉ гибридов, линии 1–6), селекционной линии BW49880 (BC₁, линии 7–11) и сорта Элемент 22 (BC₁, линии 12–15), созданные методом гибридизации и отбора с помощью молекулярных маркеров

Fig. 4. Grains of the anthocyanin biosynthesis wheat lines based on cv. Saratovskaya 29 (BC₇₋₉, lines 1–6), line BW49880 (BC₁, 7–11), and cv. Element 22 (BC₁, 12–15) backgrounds, created by the method of classical hybridization and selection with the help of the molecular markers

линий (№ 10) отличались от родительской линии BW49880 отсутствием остистости колоса, связанным с переносом доминантного гена-ингибитора остистости *B1* от сорта Саратовская 29. Среди фиолетовозерных особенно темными были зерновки линии № 8, полученной на основе BW49880. Чернозерные остистая и безостая линии BW49880 также имели более насыщенный темный пигмент в отличие от чернозерных линий на основе сортов Саратовская 29 и Элемент 22.

Суммарное содержание антоцианов

Суммарное содержание антоцианов в метанольных экстрактах из цельнозерновой (с отрубями) муки определяли у растений, выращенных в осенний период 2021 г. в гидропонной теплице ИЦиГ СО РАН. Антоцианы в зерновках родительских сортообразцов Саратовская 29, BW49880, Элемент 22 значительно не отличались друг от друга (группа **a** по уровню значимости, *U*-test), хотя белозерная селекционная линия BW49880 имела наиболее низкое значение – 4.7 мкг/г (рис. 5).

Среди фиолетовозерных образцов линия № 8 на основе BW49880 имела самое высокое значение суммарного содержания антоцианов (639.9 мкг/г), значительно не отличающееся от чернозерных линий на основе данной селекционной линии (602.0 и 688.8 мкг/г) и превышающее суммарное содержание антоцианов чернозерных линий на основе двух других сортов – Саратовская 29 (517.9 и 521.4 мкг/г) и Элемент 22 (429.4 мкг/г). Это, вероятно, связано с присутствием в зерновках селекционной линии BW49880 повышенного содержания цинка. В то же время чернозерная безостая линия № 10 с более мелкими зерновками показала более высокое САА в сравнении с остистой крупнозерной линией № 11 (688.8 против 602.0 мкг/г).

Голубозерные линии на основе сорта Саратовская 29 с замещениями разных хромосом (4В и 4D) хромосомами пырея 4Th по содержанию антоцианов в зерновках значительно не отличались – средние значения 295.0 и 279.9 мкг/г соответственно (см. рис. 5). Голубозерная линия на основе сорта Элемент 22, имея достоверно более крупные зерновки и массу 1000 зерен – 39.3 г, в то же время значительно не отличалась по суммарному содержанию антоцианов (306.0 мкг/г) от голубозерных линий сорта Саратовская 29, превышая последних по данному показателю. Самое низкое значение суммарного содержания антоцианов и массы 1000 зерен среди голубозерных линий отмечено у линии № 9, созданной на основе BW49880.

Обсуждение

Молекулярное генотипирование гибридных и родительских линий

С использованием гибридизации и отбора с помощью маркеров нами получены и проанализированы три набора линий яровой мягкой пшеницы с различной окраской зерновок, созданных на основе сорта Саратовская 29 (линии 1–6), линии BW49880 (7–11) и сорта Элемент 22 (12–15) (см. табл. 2).

Фиолетовозерные линии на основе сорта Элемент 22 и линии BW49880 созданы ранее в результате скрещивания

и беккроссирования с фиолетовозерными изогенными линиями $\phi C29^P$ и $\phi C29^{PF}$ сорта Саратовская 29, содержащими участки хромосом 2A и 7D сортов Purple и Purple Feed соответственно, с доминантными аллелями регуляторных генов биосинтеза антоцианов *Pp-D1* и *Pp3* (Gordeeva et al., 2020; Хлесткина и др., 2021) (см. рис. 1).

Голубозерные линии на основе сорта Элемент 22 и линии BW49880 получены в результате их скрещивания с донорной голубозерной линией сорта Саратовская 29 (BC₇), содержащей в геноме пару хромосом 4Th пырея с доминантными генами *Va1*, перенесенными ранее от озимого сорта пшеницы из Болгарии Мегора, и, как нами установлено, заместившей пару хромосом 4D пшеницы (Gordeeva et al., 2019) и последующего беккроссирования (см. рис. 1). Однако при молекулярном анализе гибридной голубозерной линии, полученной на основе сорта Элемент 22, выявлено, что у этой линии вместо пары хромосом 4D произошла замена пары хромосом 4В хромосомами пырея 4Th. Подобный эффект смены замещения пшеничных хромосом 4В вместо 4D отмечен нами ранее при создании голубозерных линий на основе сорта Саратовская 29 (Gordeeva et al., 2022).

Однако хромосомы 4В и 4D не полностью гомологичны. Хромосома 4D имеет один из самых низких уровней полиморфизма ДНК (Gupta et al., 2008). В хромосоме 4В выявлена наиболее протяженная область горячих точек QTL для массы зерна (Guan et al., 2018) и расположены четыре кластера, содержащие 45 QTL для регуляции минерального питания К, Са и Mg (Shen et al., 2019). В связи с чем к данной хромосоме пшеницы привлечено повышенное внимание исследователей как к потенциальной мишени для пирамидирования «полезных» генов в одном геноме. Следовательно, при селекции необходимо контролировать, какая именно пара гомологичных хромосом пшеницы, 4В или 4D, замещена хромосомами пырея.

Для увеличения содержания антоцианов и пирамидирования антоцианов в алейроне и перикарпе в зерновках пшеницы целесообразно получение чернозерных образцов (Syed Jaafar, 2013; Garg, 2016). Для этого нами произведено скрещивание голубозерных с фиолетовозерными растениями внутри трех наборов линий. Неоценимую роль в отборе растений в F₂ гибридов сыграло использование молекулярных маркеров, поскольку требовалось одновременно отобрать три пары доминантных аллелей регуляторных генов биосинтеза антоцианов *Pp-D1*, *Pp3* и *Va1*, а также диагностировать замещения хромосом 4-й гомеологичной группы мягкой пшеницы и наследования интрогрессированных рекомбинантных участков хромосом 2A и 7D (см. Приложение). Для этих целей использовали внутригенные маркеры *Pp1-diagnostic*, *Pp3-diagnostic*, *ThMyc4E-specific* и сцепленные с ними микросателлитные маркеры (см. табл. 1).

Маркер *Pp3-diagnostic* позволил четко выявлять доминантные и рецессивные аллели гена *Pp3* и отобрать доминантные аллели этого гена в гомозиготном состоянии. С использованием микросателлитных маркеров Xgwm0294 и Xgwm0312 можно определить наследование интрогрессии с искомым аллелем гена *Pp3*. Внутригенный маркер *Pp1-diagnostic* позволял одновременно выявить как доминантный аллель гена *Pp-D1*, так и рецессивные аллели

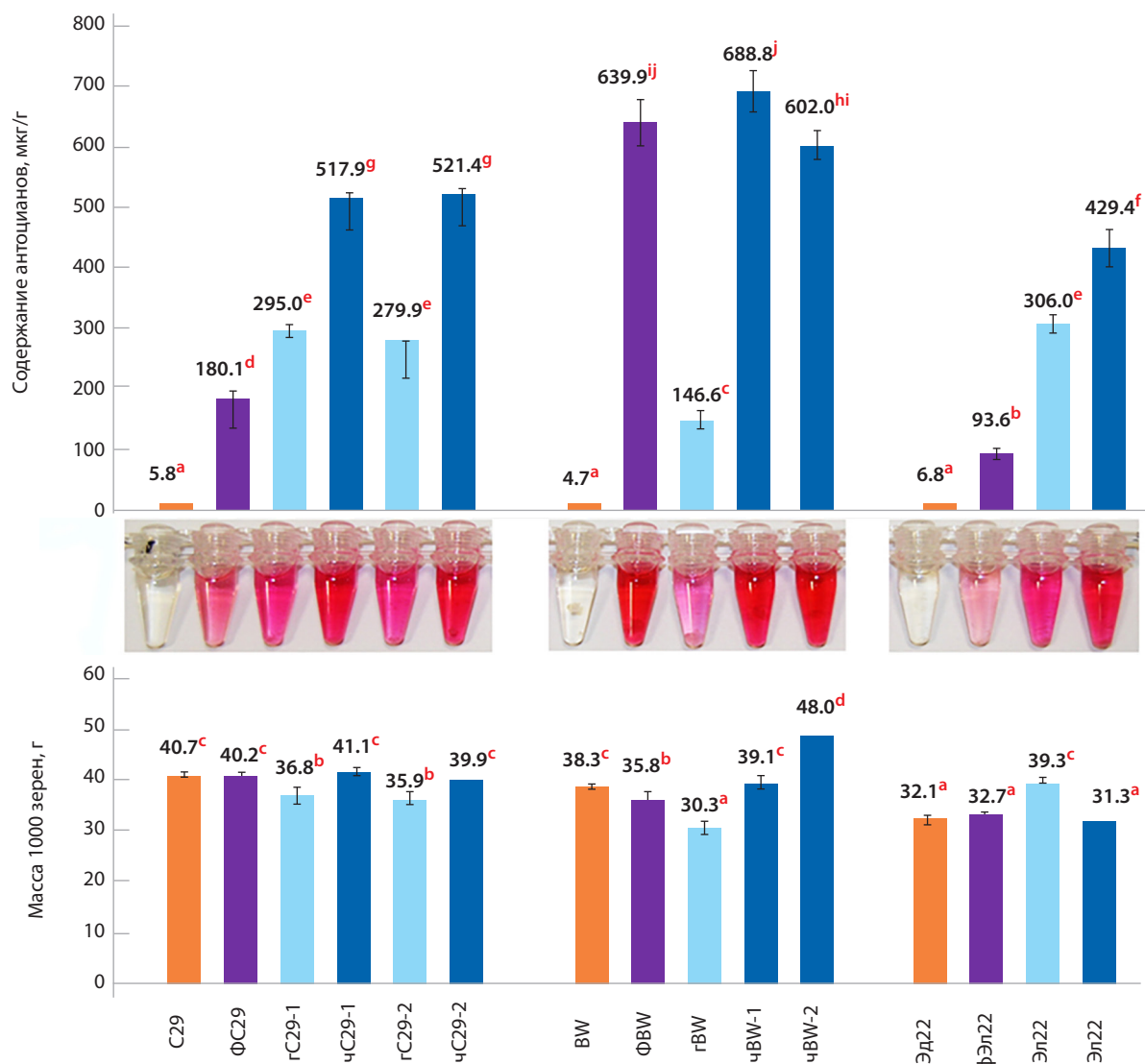


Рис. 5. Суммарное содержание антоцианов в метанольных экстрактах из цельнозерновой муки и масса 1000 зерен в наборах линий мягкой пшеницы с различной антоциановой окраской на основе сортообразцов Саратовская 29 (линии 1–6), BW49880 (7–11) и Элемент 22 (12–15) Буквами (a, b, c, d...) отмечены статистически значимые различия между группами

Fig. 5. The total anthocyanin contents in methanol extracts from whole-wheat flour and weight of one thousand grains in sets of grain colored wheat lines based on parental varieties Саратовская 29 (lines 1–6), BW49880 (7–11), and Element 22 (12–15)

Letters (a, b, c, d...) indicate statistically significant differences between the groups

гомеологичных генов *Pp-A1* и *Pp-B1* (см. рис. 2). Данные гены регулируют синтез антоцианов одновременно в перикарпе и колеоптиле. Поэтому для определения наличия доминантного аллеля гена *Pp-D1* альтернативно молекулярному генотипированию и/или совместно с ним нами проведена фенологическая оценка пигментации колеоптилей у 4–5-дневных проростков перед их высадкой. С помощью микросателлитных маркеров *Xgwm0044* и *Xgwm0111*, *Xgwm0437* и *Xgwm1002*, локализованных на хромосоме 7D, можно оценить размер рекомбинантного фрагмента, несущего доминантный аллель гена *Pp-D1*.

Голубозерные растения пшеницы в F_2 гибридов можно отобрать по фенотипу. Однако оценка наличия голубого пигмента в алейроне затруднена при отборе черnozерных растений, которые накапливают одновременно антоциа-

ны и в перикарпе, и в алейроне. Маркер *ThMyc4E-specific* совместно с микросателлитными маркерами к хромосомам 4B (*Xgwm0251*, *Xgwm0375*) и 4D (*Xgwm0609*, *Xgwm0624*, *Xgwm4001*) позволил в F_2 гибридов диагностировать и отобрать голубо- и черnozерные формы с парой пырейных хромосом 4Th, замесивших после гибридизации пару хромосом 4B, либо 4D (Гордеева и др., 2022; Gordeeva et al., 2022). Наблюдаемое отсутствие продуктов амплификации микросателлитных маркеров, локализованных на хромосомах 4B или 4D (см. рис. 3), свидетельствует о потере данных хромосом у голубо- и черnozерных линий пшеницы и их замещении пырейной парой 4Th, что подтверждает появление в геноме этих линий продуктов ПЦР маркера *ThMyc4E-specific*. Наличие у гибридных образцов одновременно ПЦР-продуктов маркеров, локализованных на хромосомах

4В и 4D, указывает на неполное замещение хромосом пшеницы хромосомами 4Th пырея.

Разработанные нами внутригенные маркеры к регуляторным генам биосинтеза антоцианов совместно со сцепленными с данными генами микросателлитными маркерами могут быть использованы в селекции линий мягкой пшеницы, накапливающих антоцианы одновременно в перикарпе и алейроновом слое зерновки, на основе любых коммерческих сортов.

Оценка суммарного содержания антоцианов в зерновках

Несмотря на одинаковое происхождение доминантных генов *Pp-D1*, *Pp3*, *Va1* от донорных родителей, линии пшеницы с различной окраской зерновок, полученные на основе разных сортов, отличались друг от друга по суммарному содержанию антоцианов, что доказывает влияние генотипа реципиента на выраженность этого показателя. У линий, созданных на основе сортов Саратовская 29 и Элемент 22, отмечено увеличение количества антоцианов по возрастающей шкале: краснозерные < фиолетовозерные < голубозерные < чернозерные. В наборе линий, созданных на основе белозерной селекционной линии BW49880, количество антоцианов голубозерой линии было значительно ниже (146.6 мкг/г) данного показателя фиолетовозерной линии (639.9 мкг/г) (см. рис. 5). Фиолетовозерный образец значимо не отличался от чернозерных линий на основе данной селекционной линии (602.0 и 688.8 мкг/г), что можно объяснить наличием у нее повышенного содержания Zn и эффектом хелатирования металлов антоцианами в наружных слоях зерновки. Так, ранее в Индии (Мохали, Пенджаб) с помощью гибридизации адаптированных к местным условиям индийских сортов пшеницы PBW550, PBW621 и HD2967 с низкоурожайными линиями – голубозерной TA3972 с замещением 4BL на пырейную 4EL (синоним 4ThL) и фиолетовозерной TA3851 (Канзас, США), а также с чернозерной пшеницей с заменой 4E(4D) (синоним 4Th(4D)) (Тоттори, Япония) вывели коммерческие высокоурожайные, устойчивые к болезням линии озимой пшеницы с различной антоциановой окраской зерновок (Sharma et al., 2018). В полученных данными авторами линиях содержание антоцианов в зерновках возрастало по шкале: белозерные (13.0 ± 0.2 мкг/г) < голубозерные (120.6 ± 2.1 мкг/г) < фиолетовозерные (122.5 ± 9.8 мкг/г) < чернозерные (134.0 ± 8.4 мкг/г). Содержание Fe и Zn в зерновках новых линий пшеницы было выше, чем в родительских белозерных образцах.

Несмотря на то что при благоприятных условиях выращивания общее количество антоцианов в зерновках фиолетовозерной линии BW49880 приближается к суммарному содержанию антоцианов в зерновках чернозерных образцов, линии с различной окраской зерновок отличаются по составу данных соединений. Наиболее распространенными антоцианами в фиолетовом перикарпе зерновок являются цианидин-3-глюкозид, цианидин-3-рутинозид и пеонидин-3-глюкозид, в голубом алейроновом слое доминирует дельфинидин-3-глюкозид, пеларгонидин-3-глюкозид, за которыми следует цианидин-3-рутинозид, дельфинидин-3-рутинозид и др. (Abdel-Aal et al., 2016; Sharma et al., 2018). Чернозерные растения, накапливающие антоцианы и в пе-

рикарпе, и в алейроновом слое, таким образом, обладают не только самым высоким общим количеством антоцианов в зерновках, но и более разнообразным их содержанием.

Средняя масса 1000 зерен линий индийской пшеницы с различной антоциановой окраской зерновок существенно не отличалась от высокоурожайных сортов-контролей (Sharma et al., 2018). В нашей работе средняя масса 1000 зерен была достоверно ниже у голубозерных образцов на основе сорта Саратовская 29 и линии BW49880. В то же время голубозерная линия на основе сорта Элемент 22 достоверно превышала сорт-реципиент (39.3 г) (см. рис. 5) и другие голубозерные линии по данному показателю. Средняя масса 1000 зерен чернозерных линий была на уровне родительских сортов и даже превышала их в чернозерных образцах линии BW49880 (39.1 и 48.8 в сравнении с 38.3 г) (см. рис. 5), что свидетельствует о влиянии родительского генотипа на качество и количество зерновок в новых гибридных линиях. В настоящее время лучшие линии включены в селекционный процесс Омского ГАУ.

Заключение

Маркеры *Pp1-diagnostic*, *Pp3-diagnostic*, *ThMyc4E-specific*, разработанные нами к регуляторным генам биосинтеза антоцианов, совместно со сцепленными с генами микросателлитными маркерами показали высокую эффективность при создании линий мягкой пшеницы с повышенным содержанием антоцианов в зерновках. В качестве перспективного донора генов биосинтеза антоцианов и для обогащения цинком коммерческих сортов мы предлагаем использовать чернозерные линии, полученные на основе селекционной линии BW49880. Эти линии помимо генов окраски обладают комплексной устойчивостью к стеблевой и листовой ржавчинам. В селекции в качестве донора доминантного гена *Va1* предлагаем применять голубозерную линию, полученную на основе сорта Элемент 22, показавшую помимо высокого уровня антоцианов в алейроне достоверно значимое повышение массы 1000 зерен.

Список литературы / References

- Арбузова В.С., Бадаева Е.Д., Ефремова Т.Т., Осадчая Т.С., Трубочева Н.В., Добровольская О.Б. Цитогенетическое изучение голубозерной линии мягкой пшеницы сорта Саратовская 29. *Генетика*. 2012;48(8):926-933.
[Arbuzova V.S., Badaeva E.D., Efremova T.T., Osadchaya T.S., Trubacheva N.V., Dobrovolskaya O.B. A cytogenetic study of the blue-grain line of the common wheat cultivar Saratovskaya 29. *Russian Journal of Genetics*. 2012;48(8):785-791. DOI 10.1134/S102279541205002X]
- Гордеева Е.И., Шоева О.Ю., Хлесткина Е.К. Способ отбора гибридов мягкой пшеницы с голубой окраской зерновки. Патент № 2790186, 01.06.2022.
[Gordeeva E.I., Shoeva O.Yu., Khlestkina E.K. Method for the selection of the bread wheat hybrids with blue grain color. Patent No. 2790186, 01.06.2022. (in Russian)]
- Запрометов М.Н. Фенольные соединения. Распространение, метаболизм и функции в растениях. М.: Наука, 1993.
[Zaprometov M.N. Phenolic compounds. Distribution, metabolism and functions in plants. Moscow: Nauka Publ., 1993. (in Russian)]
- Коваль С.Ф. Каталог изогенных линий сорта мягкой пшеницы Новосибирская 67 и принципы их использования в эксперименте. *Генетика*. 1997;33(8):1168-1173.
[Koval' S.F. The catalog of near-isogenic lines of Novosibirskaya-67 common wheat and principles of their use in experiments. *Genetica (Moscow)*. 1997;33(8):995-1000]

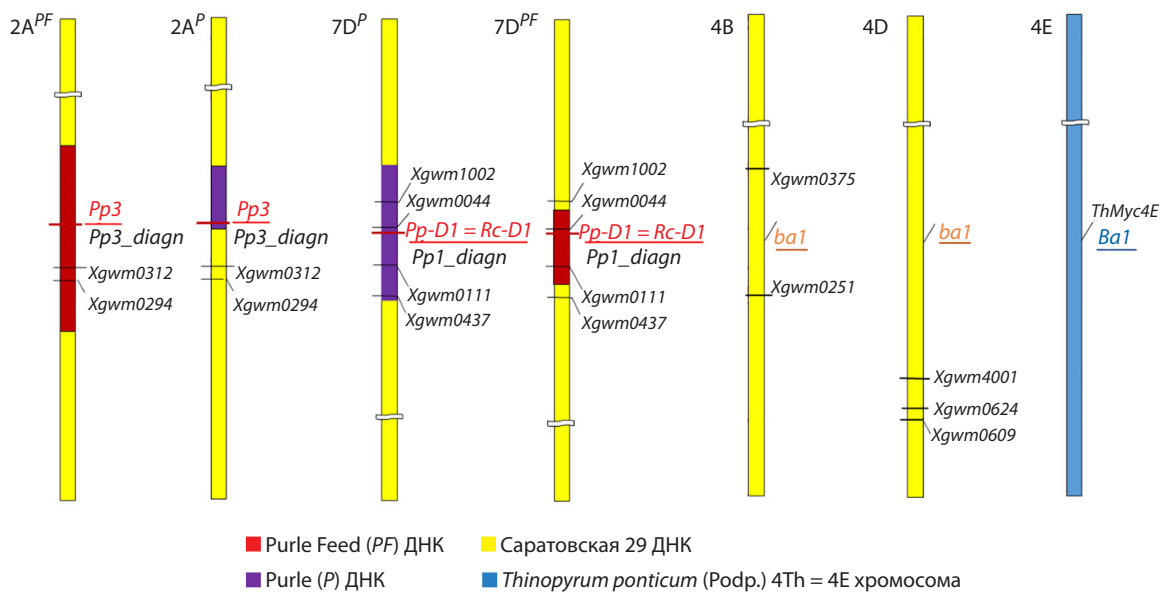
- Стрыгина К.В., Хлесткина Е.К. Структурно-функциональная организация и эволюция генов семейства *WD40*, участвующих в регуляции биосинтеза флавоноидов у представителей трибы *Triticeae*. *Генетика*. 2019;55(11):1350-1358. DOI 10.1134/S0016675819110158.
- [Strygina K.V., Khlestkina E.K. Structural and functional organization and evolution of the *WD40* genes involved in the regulation of flavonoid biosynthesis in the *Triticeae* tribe. *Russian Journal of Genetics*. 2019;55(11):1398-1405. DOI 10.1134/S1022795419110152]
- Хлесткина Е.К. Гены, детерминирующие окраску различных органов пшеницы. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2012;16(1):202-216.
- [Khlestkina E.K. Genes determining coloration of different organs in wheat. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2012;16(1):202-216. (in Russian)]
- Хлесткина Е.К., Гордеева Е.И., Шоева О.Ю., Кукоева Т.В., Шаманин В.П., Моргунов А.И. Способ отбора линий яровой мягкой пшеницы с повышенным содержанием антоцианов в зерне. Патент № 2762804 С1, 09.02.2021.
- [Khlestkina E.K., Gordeeva E.I., Shoeva O.Yu., Kukoeva T.V., Shamanin V.P., Morgunov A.I. A method of selection of the spring bread wheat lines with a high content of anthocyanins in the grain. Patent No. 2762804 C1, 09.02.2021. (in Russian)]
- Хлесткина Е.К., Шоева О.Ю., Гордеева Е.И. Гены биосинтеза флавоноидов пшеницы. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2014;18(4/1):784-796.
- [Khlestkina E.K., Shoeva O.Y., Gordeeva E.I. Flavonoid biosynthesis genes in wheat. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2014;18(4/1):784-796. (in Russian)]
- Шаманин В.П., Потоцкая И.В., Шепелев С.С., Пожерукова В.Е., Салина Е.А., Сколотнева Е.С., Ходсон Д., Хоумвёллер М., Патпур М., Моргунов А.И. Стеблевая ржавчина Западной Сибири – расовый состав и эффективные гены устойчивости. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2020;24(2):131-138. DOI 10.18699/VJ20.608.
- [Shamanin V.P., Pototskaya I.V., Shepelev S.S., Pozherukova V.E., Salina E.A., Skolotneva E.S., Hodson D., Hoymveller M., Patpour M., Morgunov A.I. Stem rust in Western Siberia – race composition and effective resistance genes. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2020;24(2):131-138. DOI 10.18699/VJ20.608. (in Russian)]
- Шоева О.Ю., Гордеева Е.И., Хлесткина Е.К. Внутригенный ДНК-маркёр для отбора пшеницы с повышенным содержанием антоцианов в перикарпе зерновки. Патент № 2774444, 29.11.2021.
- [Shoeva O.Yu., Gordeeva E.I., Khlestkina E.K. An intragenic DNA marker for the selection of the wheat with an increased content of anthocyanins in the grain pericarp. Patent No. 2774444, 29.11.2021. (in Russian)]
- Юдина Р.С., Гордеева Е.И., Шоева О.Ю., Тихонова М.А., Хлесткина Е.К. Антоцианы как компоненты функционального питания. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2021;25(2):178-189. DOI 10.18699/VJ21.022.
- [Yudina R.S., Gordeeva E.I., Shoeva O.Y., Tikhonova M.A., Khlestkina E.K. Anthocyanins as functional food components. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2021;25(2):178-189. DOI 10.18699/VJ21.022. (in Russian)]
- Abdel-Aal E.S.M., Hucl P. A rapid method for quantifying total anthocyanins in blue aleurone and purple pericarp wheats. *Cereal Chem*. 1999;76(3):350-354. DOI 10.1094/CCHEM.1999.76.3.350.
- Abdel-Aal E.S.M., Hucl P., Shipp J., Rabalski I. Compositional Differences in Anthocyanins from Blue-and Purple-Grained Spring Wheat Grown in Four Environments in Central Saskatchewan. *Cereal Chem*. 2016;93(1):32-38. DOI 10.1094/CCHEM-03-15-0058-R.
- Arbuzova V.S., Maystrenko O.I. Chromosomal location of genes for purple grain colour introgressed in common wheat. *Cereal Res. Comm*. 2000;28(3):235-237. DOI 10.1007/BF03543599.
- Arbuzova V.S., Maystrenko O.I., Popova O.M. Development of near-isogenic lines of the common wheat cultivar 'Saratovskaya 29'. *Cereal Res. Com*. 1998;26(1):39-46. DOI 10.1007/BF03543466.
- Dubcovsky J., Luo M.C., Zhong G.Y., Bransteitter R., Desai A., Kilian A., Kleinhofs A., Dvořák J. Genetic map of diploid wheat, *Triticum monococcum* L., and its comparison with maps of *Hordeum vulgare* L. *Genetics*. 1996;143(2):983-999. DOI 10.1093/genetics/143.2.983.
- Dwivedi S.L., Mattoo A.K., Garg M., Dutt S., Singh B., Ortiz R. Developing germplasm and promoting consumption of anthocyanin-rich grains for health benefits. *Front. Sust. Food Syst*. 2022;6:867897. DOI 10.3389/fsufs.2022.867897.
- Garg M., Chawla M., Chunduri V., Kumar R., Sharma S., Sharma N.K., Kaur N., Kumar A., Munday J.K., Saini M.K., Singh S.P. Transfer of grain colors to elite wheat cultivars and their characterization. *J. Cereal Sci*. 2016;71:138-144. DOI 10.1016/j.jcs.2016.08.004.
- Gordeeva E., Badaeva E., Yudina R., Shchukina L., Shoeva O., Khlestkina E. Marker-assisted development of a blue-grained substitution line carrying the *Thinopyrum ponticum* chromosome 4Th(4D) in the spring bread wheat Saratovskaya 29 background. *Agronomy*. 2019;9(11):723. DOI 10.3390/agronomy9110723.
- Gordeeva E., Shamanin V., Shoeva O., Kukoeva T., Morgounov A., Khlestkina E. The strategy for marker-assisted breeding of anthocyanin-rich spring bread wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars in Western Siberia. *Agronomy*. 2020;10(10):1603. DOI 10.3390/agronomy10101603.
- Gordeeva E., Shoeva O., Mursalimov S., Adonina I., Khlestkina E. Fine points of marker-assisted pyramiding of anthocyanin biosynthesis regulatory genes for the creation of black-grained bread wheat (*Triticum aestivum* L.) lines. *Agronomy*. 2022;12(12):2934. DOI 10.3390/agronomy12122934.
- Guan P., Lu L., Jia L., Kabir M.R., Zhang J., Lan T., Zhao Y., Xin M., Hu Z., Yao Y., Ni Z., Sun Q., Peng H. Global QTL analysis identifies genomic regions on chromosomes 4A and 4B harboring stable loci for yield-related traits across different environments in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Front. Plant Sci*. 2018;9:529. DOI 10.3389/fpls.2018.00529.
- Gupta P.K., Mir R.R., Mohan A., Kumar J. Wheat genomics: present status and future prospects. *Int. J. Plant Genomics*. 2008;2008:896451. DOI 10.1155/2008/896451.
- Himi E., Taketa S. Isolation of candidate genes for the barley *Ant1* and wheat *Rc* genes controlling anthocyanin pigmentation in different vegetative tissues. *Mol. Genet. Genomics*. 2015;290(4):1287-1298. DOI 10.1007/s00438-015-0991-0.
- Jiang W., Liu T., Nan W., Jeewani D.C., Niu Y., Li C., Wang Y., Shi X., Wang C., Wang J., Li Y., Gao X., Wang Z. Two transcription factors TaPpm1 and TaPpb1 co-regulate anthocyanin biosynthesis in purple pericarps of wheat. *J. Exp. Bot*. 2018;69(10):2555-2567. DOI 10.1093/jxb/ery101.
- Keppenne V.D., Baenziger S. Inheritance of the blue aleurone trait in diverse wheat crosses. *Genome*. 1990;33(4):525-529. DOI 10.1139/g90-078.
- Korzun V., Röder M., Worland A.J., Börner A. Intrachromosomal mapping of genes for dwarfing (*Rht12*) and vernalization response (*Vrn1*) in wheat by using RFLP and microsatellite markers. 1997;116(3):227-232. DOI 10.1111/j.1439-0523.1997.tb00987.x.
- Landi M., Tattini M., Gould K.S. Multiple functional roles of anthocyanins in plant-environment interactions. *Env. Exp. Botany*. 2015;119:4-17. DOI 10.1016/j.envexpbot.2015.05.012.
- Lap B., Rai M., Tyagi W. Playing with colours: genetics and regulatory mechanisms for anthocyanin pathway in cereals. *Biotechnol. Genet. Eng. Rev*. 2021;37(1):1-29. DOI 10.1080/02648725.2021.1928991.
- Li N., Li S., Zhang K., Chen W., Zhang B., Wang D., Liu D., Liu B., Zhang H. *ThMYC4E*, candidate *Blue aleurone 1* gene controlling the associated trait in *Triticum aestivum*. *PLoS One*. 2017;12(7):e0181116. DOI 10.1371/journal.pone.0181116.
- Li W.L., Faris J.D., Chittoor J.M., Leach J.E., Hulbert S.H., Liu D.J., Chen P.D., Gill B.S. Genomic mapping of defense response genes in wheat. *Theor. Appl. Genet*. 1999;98:226-233. DOI 10.1007/s001220051062.
- Ludwig S.R., Habera L.F., Dellaporta S.L., Wessler S.R. Lc, a member of the maize R gene family responsible for tissue-specific anthocyanin production, encodes a protein similar to transcription activators and contains the myc-homology region. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1989;86(18):7092-7096. DOI 10.1073/pnas.86.18.7092.
- Plaschke J., Ganai M.W., Roeder M.S. Detection of genetic diversity in closely related bread wheat using microsatellite markers. *Theor. Appl. Genet*. 1995;91(6-7):1001-1007. DOI 10.1007/BF00223912.
- Röder M.S., Korzun V., Wendehake K., Plaschke J., Tixier M.H., Leroy P., Ganai M.W. A microsatellite map of wheat. *Genetics*. 1998;149(4):2007-2023. DOI 10.1093/genetics/149.4.2007.
- Sharma S., Chunduri V., Kumar A., Kumar R., Khare P., Kondepudi K.K., Bishnoi M., Garg M. Anthocyanin bio-fortified colored wheat: Nutritional and functional characterization. *PLoS One*. 2018;13(4):e0194367. DOI 10.1371/journal.pone.0194367.

- Shen X., Yuan Y., Zhang H., Guo Y., Zhao Y., Li S., Kong F. The hot QTL locations for potassium, calcium, and magnesium nutrition and agronomic traits at seedling and maturity stages of wheat under different potassium treatments. *Genes*. 2019;10(8):607. DOI 10.3390/genes10080607.
- Shen Y., Shen J., Dawadondup, Zhuang L., Wang Y., Pu J., Feng Y., Chu C., Wang X., Qi Z. Physical localization of a novel blue-grained gene derived from *Thinopyrum bessarabicum*. *Mol. Breed.* 2013;31:195-204. DOI 10.1007/s11032-012-9783-y.
- Shoeva O.Y., Gordeeva E.I., Khlestkina E.K. The regulation of anthocyanin synthesis in the wheat pericarp. *Molecules*. 2014;19(12):20266-20279. DOI 10.3390/molecules191220266.
- Singh K., Ghai M., Garg M., Chhuneja P., Kaur P., Schnurbusch T., Keller B., Dhaliwal H.S. An integrated molecular linkage map of diploid wheat based on a *Triticum boeoticum* × *T. monococcum* RIL population. *Theor. Appl. Genet.* 2007;115(3):301-312. DOI 10.1007/s00122-007-0543-z.
- Syed Jaafar S.N., Baron J., Siebenhandl-Ehn S., Rosenau T., Böhmendorfer S., Grausgruber H. Increased anthocyanin content in purple pericarp × blue aleurone wheat crosses. *Plant Breed.* 2013;132(6):546-552. DOI 10.1111/pbr.12090.
- Wang C., Shu Q. Fine mapping and candidate gene analysis of purple pericarp gene *Pb* in rice (*Oryza sativa* L.). *Chin. Sci. Bull.* 2007;52:3097-3104. DOI 10.1007/s11434-007-0472-x.
- Wang X., Zhang X., Hou H., Ma X., Sun S., Wang H., Kong L. Metabolomics and gene expression analysis reveal the accumulation patterns of phenylpropanoids and flavonoids in different colored-grain wheats (*Triticum aestivum* L.). *Food Res. Int.* 2020;138(Pt. A):109711. DOI 10.1016/j.foodres.2020.109711.
- Zeven A.C. Wheats with purple and blue grains: a review. *Euphytica*. 1991;56:243-258. DOI 10.1007/BF00042371.
- Zheng Q., Li B., Mu S., Zhou H., Li Z. Physical mapping of the blue-grained gene(s) from *Thinopyrum ponticum* by GISH and FISH in a set of translocation lines with different seed colors in wheat. *Genome*. 2006;49(9):1109-1114. DOI 10.1139/g06-073.
- Zong Y., Xi X., Li S., Chen W., Zhang B., Liu D., Liu B., Wang D., Zhang H. Allelic variation and transcriptional isoforms of wheat *TaMYC1* gene regulating anthocyanin synthesis in pericarp. *Front. Plant Sci.* 2017;8:1645. DOI 10.3389/fpls.2017.01645.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Спонсоры не участвовали в разработке исследования, при сборе, анализе или интерпретации данных, в написании рукописи или решении опубликовать результаты.

Поступила в редакцию 4.04.2023. После доработки 10.04.2023. Принята к публикации 11.04.2023.

Приложение



Схематическое изображение хромосом, на которых картированы регуляторные гены биосинтеза антоцианов *Pp3*, *Pp-D1*, *Ba1* и сцепленные с ними молекулярные маркеры, использованные в работе. Различным цветом показаны участки интрогрессий, унаследованные от донорных линий

Schematic representation of the chromosomes with the mapped anthocyanin biosynthesis regulatory genes *Pp3*, *Pp-D1*, *Ba1* and linked with them molecular markers used in this study. Different color shows fragments introgressed in Saratovskaya 29 genome from donor lines

 pismavavilov.ru

DOI 10.18699/LettersVJ-2023-9-12

Обзор

Роль внеклеточных нуклеиновых кислот в процессах регенерации

В.П. Николин¹ ✉, Н.А. Попова^{1,2} ✉

Аннотация: В обзорной статье приведены результаты исследований, свидетельствующие об участии внеклеточных нуклеиновых кислот в процессах регенерации поврежденной ткани. Высвобождаемые из поврежденных клеток нуклеиновые кислоты в качестве аларминов, выступая лигандами для эндосомальных толл-подобных рецепторов (TLRs), активируют их и через TLR-зависимый механизм индуцируют стерильное воспаление, которое необходимо для восстановления повреждения. Нарушение регуляции процессов воспаления может привести к развитию различных патологий. Критическим является переход от фазы воспаления к фазе пролиферации. Этот переход сложно и четко регулируется, однако тонкости управления до конца не выяснены.

Ключевые слова: внеклеточные нуклеиновые кислоты; DAMPs; толл-подобные рецепторы; стерильное воспаление; регенерация ткани.

Для цитирования: Николин В.П., Попова Н.А. Роль внеклеточных нуклеиновых кислот в процессах регенерации. *Письма в Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2023;9(2):100-105. DOI 10.18699/LettersVJ-2023-9-12

Благодарности: Работа выполнена в рамках бюджетного проекта FWNR-2022-0016.

Review

The role of extracellular nucleic acids in regeneration processes

V.P. Nikolin¹ ✉, N.A. Popova^{1,2} ✉

Abstract: The review article presents the results of studies indicating the participation of the extracellular nucleic acids in the regeneration of damaged tissue. Nucleic acids released from damaged cells as alarmins, being ligands for endosomal toll-like receptors (TLRs), activate them and, through a TLR-dependent mechanism, induce sterile inflammation, which is necessary to repair damage. Dysregulation of inflammatory can lead to the development of various pathologies. The critical is the transition from the phase of inflammation to the phase of proliferation. This transition is complex and clearly regulated, but the subtleties of regulation are not fully understood.

Key words: extracellular nucleic acids; TLRs; DAMPs; sterile inflammation; tissue regeneration.

For citation: Nikolin V.P., Popova N.A. The role of extracellular nucleic acids in regeneration processes. *Pisma v Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Letters to Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2023;9(2):100-105. DOI 10.18699/LettersVJ-2023-9-12 (in Russian)

Acknowledgements: This work was supported by the budget project FWNR-2022-0016.

Источники и транспортные формы внеклеточных нуклеиновых кислот

Впервые о присутствии в плазме крови внеклеточных нуклеиновых кислот (вкНК) сообщили P. Mandel и P. Metais в 1948 г. (Mandel, Metais, 1948). Систематическое исследование вкНК началось спустя почти 20 лет. При этом длительное время внимание исследователей было сфокусировано в основном

на изучении вкДНК при аутоиммунных заболеваниях, таких как ревматоидный артрит и системная красная волчанка (Tan et al., 1966). Начиная с 1977 г., после того как было продемонстрировано повышение уровня циркулирующей ДНК в плазме онкологических больных, а позже – у беременных женщин, обозначено новое направление – анализ циркулирующих вкНК с целью диагностики и прогноза течения

¹ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия
Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

² Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия
Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

✉ nikolin@bionet.nsc.ru; nelly@bionet.nsc.ru

© Nikolin V.P., Popova N.A., 2023

онкологических заболеваний, а также неинвазивной пренатальной диагностики (Leon et al., 1977; Stroun et al., 1977; Lo et al., 1997; Kopreski et al., 1999). И лишь в последние 10–15 лет начато исследование их возможной биологической роли.

Ежедневно в организме человека проходят деление несколько сотен миллиардов клеток, в результате чего поддерживается клеточный гомеостаз, поскольку примерно такое же количество миелоидных и лимфоидных клеток гибнет посредством апоптоза и некроза (Nagata et al., 2010). При этом в кровоток высвобождаются нуклеосомы и различные типы нуклеиновых кислот, включая ДНК, РНК, митохондриальную ДНК и микроРНК (миРНК) (Peters, Pretorius, 2011; Snyder et al., 2016). В норме концентрация ДНК в плазме крови человека, по разным данным, составляет в среднем 10–13 (0–28) нг/мл, концентрация РНК – 3–5 (0–17) нг/мл. Их концентрация может во много раз возрасти при различных патологических состояниях (Butt, Swaminathan, 2008). Состав и свойства вкНК зависят от их источника и состояния организма. В плазме крови большинства реципиентов после трансплантации органов присутствуют последовательности донор-специфической ДНК (Gadi et al., 2006). У онкологических больных источником циркулирующих в крови НК служат как опухолевые, так и нормальные клетки. При неоплазиях, ассоциированных с вирусной инфекцией, также выявляют вирусную ДНК, при бактериальных инфекциях – бактериальную ДНК.

В настоящее время установлено, что источником вкНК являются не только погибающие, но и живые клетки, которые активно секретируют НК. Согласно данным P.B. Gahan и M. Stroun (2010), вновь синтезированные НК могут секретироваться клетками в виде комплекса ДНК/РНК-липопротеин (виртосома). Значительное количество миРНК активно секретируется клетками в ассоциации с аргонавтом 2 (AGO2) (Arroyo et al., 2011). Другой РНК-связывающий белок, определяемый в комплексе с циркулирующей миРНК, – нуклеофосмин 1 (NPM1) (Wang et al., 2010; Turchinovich et al., 2011). Ассоциация с белком или липопротеином в действительности служит транспортной формой циркулирующих вкНК, в которой они по крайней мере частично защищены от ферментативной деградации (Rykova et al., 1994). Другой транспортной формой вкНК, защищающей их от нуклеаз, выступают экстраклеточные везикулы. Это своеобразные контейнеры, в которых кроме биологически активных молекул содержатся и НК (Valadi et al., 2007).

Многочисленные исследования посвящены изучению роли отдельных вкНК в диагностике, патогенезе и прогнозе различных патологических процессов (Tong, Lo, 2006). Вместе с тем вкНК в зависимости от того, циркулируют они в «свободном» виде или в экстраклеточных везикулах, могут вовлекаться в различные процессы, действуя на клеточном или организменном уровне в качестве сигнальных, информационных или регуляторных молекул. Существенную роль играют толл-подобные рецепторы (TLRs), которые могут участвовать в распознавании гибели клеток, высвобождающих НК, и в ответ индуцировать соответствующие реакции (Meylan et al., 2006; Lee, Kim, 2007).

В настоящей обзорной статье приведены данные, свидетельствующие о том, что циркулирующие в крови вкНК по-

мимо специфического действия могут активировать TLRs и через TLR-зависимый механизм индуцировать стерильную воспалительную реакцию, влияющую на исход физиологических и патологических процессов.

Стерильное воспаление, индуцируемое активацией эндосомальных TLRs при распознавании DAMPs

TLRs известны своей способностью распознавать консервативные структуры микроорганизмов независимо от их патогенности. Они экспрессируются практически всеми клетками, включая клетки иммунной системы. Обычно TLRs, распознающие белки и липиды, находятся на плазматической мембране (TLR1, TLR2, TLR4, TLR6 и TLR10 участвуют в распознавании липидов, TLR5 и TLR11 распознают белки). TLRs, распознающие нуклеиновые кислоты (TLR3, TLR7, TLR8 и TLR9), локализованы в эндосомальных компартментах. Неметилированные CpG-мотивы в ДНК являются лигандами для TLR9, двуцепочечная РНК (дцРНК) – для TLR3, одноцепочечная РНК – для TLR7, TLR8. Кроме того, различные врожденные иммунные рецепторы также распознают эндогенные молекулы хозяина (в том числе НК), называемые молекулярными паттернами, связанными с повреждением (DAMPs). Они служат сигналами тревоги в стерильных условиях организма (ишемические и другие травмы, опухоли, трансплантация тканей или аутоиммунные заболевания). Пути попадания вкНК в клетку точно не известны. Независимо от способа интернализации проникшие в клетки вкНК посредством Unc93b1 транспортируются к эндосомам (Majer et al., 2017), где они могут активировать TLRs. Активированные TLR7, TLR8 и TLR9 рекрутируют молекулы-адаптеры MyD88 для активации нижестоящих сигнальных путей и NF-κB, что приводит к индукции провоспалительных цитокинов и адаптивной или защитной реакции (Fischer, 2018). TLR3 использует TRIF-зависимый путь, который запускается дцРНК. TRIF рекрутирует TRAF3 и TRAF6, через которые активирует TAK1 и TBK1, что приводит к индукции провоспалительных цитокинов и IFN типа I через NF-κB и IRF3 соответственно (Kano et al., 2022).

Таким образом, распознавание DAMPs, которые высвобождаются из поврежденных тканей, индуцирует стерильное воспаление, необходимое для удаления из поврежденного очага патогена и тканевого дебриса. Это важно для последующей регенерации ткани. Однако сбой в регуляции стерильного воспаления может привести к развитию многочисленных патологий, таких как нарушение обмена веществ, нейродегенеративные заболевания, аутоиммунные заболевания и рак (Gong et al., 2020).

При нормальной регуляции физиологических процессов связанные с DAMPs НК, функционируя в качестве аларминов, могут действовать как кофакторы в активации рецепторов распознавания и усиления воспалительной реакции, оказывая влияние на созревание дендритных клеток и стимулируя иммунный ответ. При этом секреция цитокинов может усиливать местное воспаление (Fischer, 2018). По данным F. Noll и коллег (2017), вкРНК, высвобождаемая из стрессовых или поврежденных клеток, действует синергически с агонистами TLR2, индуцируя прокоагуляторные и провоспалительные реакции. Таким образом, циркулиру-

ющие в крови вкРНК, воспринимаемые сенсорами как сигналы опасности, через TLRs могут повышать чувствительность врожденных иммунных реакций к молекулярным паттернам, ассоциированным с патогеном (PAMPs), и способствовать дифференцированному исходу воспалительных реакций. вкРНК может также вовлекаться в процесс ангиогенеза (Kluever et al., 2019). На мышинной модели ангиогенеза (перевязка бедренной артерии) показано, что эндотелиальные клетки высвобождают РНК в ответ на повышенное напряжение сосудистой стенки. Эта вкРНК путем вовлечения рецептора фактора роста эндотелия сосудов 2 (VEGFR2) регулирует миграцию лейкоцитов, тем самым иницируя многоступенчатый воспалительный процесс, ответственный за ангиогенез (Lasch et al., 2019).

вкДНК может присутствовать в кровотоке в различных формах, главным образом в виде макромолекулярных комплексов (с белками, липидами или другими нуклеиновыми кислотами) или в ассоциации с внеклеточными везикулами. При этом молекулы ДНК могут находиться как внутри, так и на внешней стороне везикул. Охарактеризованы различные подтипы вкДНК, включая дву- и одноцепочечные фрагменты, митохондриальную ДНК (Kumar et al., 2017; Pös et al., 2018). Присутствие вкДНК в кровотоке индуцирует различные типы воспалительных реакций, включая опосредованную TLRs иммунную стимуляцию и другие механизмы, чувствительные к нуклеиновым кислотам (Marsman et al., 2016). Ассоциированная с экстраклеточными везикулами ДНК способна вызывать и регулировать иммунные реакции, включая путь cGAS-STING (Kitai et al., 2017). При введении в организм ДНК индуцирует ряд цитокинов, которые участвуют в регуляции различных процессов, таких как иммунологическая реакция, пролиферация, гемопоэз и дифференцировка (Orishchenko et al., 2013). На уровне организма это проявляется в более эффективном восстановлении кровотока после химиотерапии опухолей (Николин и др., 2006). Системное введение фрагментированной ДНК летально облученным мышам защищает их стволовые кроветворные клетки и повышает выживаемость животных (Likhacheva et al., 2007).

В литературе представлены данные, согласно которым по крайней мере одним из факторов, вызывающих эффект свидетеля, является вкДНК. Предполагается, что фрагменты ДНК, выделяемые облученными клетками, взаимодействуют с ДНК-связывающими рецепторами интактных клеток (преимущественно с TLR9) и активируют сигнальные пути, ассоциированные с синтезом кислородных радикалов и окиси азота, которые и вызывают в необлученных клетках соответствующие изменения (Ermakov et al., 2011).

Одним из источников вкДНК служит нетоз. Нетоз – уникальная реакция, в первую очередь нейтрофилов, при которой ядерная ДНК после смешивания с цитоплазматическим содержимым выходит из клетки в виде сетки (внеклеточная ловушка нейтрофилов), содержащей активные формы кислорода, гистоны, миелопероксидазу и другие молекулы, которые повреждают патоген (Brinkmann et al., 2004). Однако, согласно появившимся в последнее время данным, помимо защитного механизма нетоз в результате дисбаланса между его образованием и клиренсом может играть

ключевую роль в патогенезе различных воспалительных и аутоиммунных заболеваний, таких как системная красная волчанка и ревматоидный артрит (Yu, Su, 2013; Masucci et al., 2020). Кроме того, внеклеточные ДНК-связывающие белки (гистоны) могут оказывать через TLR4-зависимый механизм вредное воздействие на эндотелий легочных сосудов (сосудистая дисфункция). Повышение уровня циркулирующих гистонов, высвобождаемых поврежденными тканями при травме и сепсисе, может представлять серьезный риск обострения острого повреждения легких и множественного повреждения органов во время тяжелой травмы и инфекции (Ramasubramanian et al., 2022).

Индукция воспаления внеклеточными нуклеиновыми кислотами при регенерации ткани

TLR3, который реагирует на дцРНК из поврежденных клеток, может служить эндогенным сенсором повреждения и регулятором иммунного ответа. Как показано в эксперименте на мышах (Nelson et al., 2015), внеклеточная дцРНК, которая секретируется клетками поврежденной кожи, активирует TLR3 и через его эффекторы IL-6 и STAT3 индуцирует синтез ретиноевой кислоты, промотирующей регенерацию волосных фолликулов. Аналогичные результаты, свидетельствующие об опосредованной через активацию TLR3 индукции синтеза ретиноевой кислоты и ее роли в регенерации волосных фолликулов, получены D. Kim с коллегами (2019). Считается, что опосредованное через TLR3 распознавание дцРНК имеет решающее значение для регенерации кожи после ее ранения. При этом фаза воспаления, которая предшествует фазе пролиферации кератиноцитов, необходима для восстановления волосных фолликулов (Wier, Garza, 2020).

Есть основания полагать, что вводимая летально облученным мышам дцРНК, интернализуясь в гемопоэтические стволовые клетки, участвует в репарации лучевых повреждений ДНК (Ritter et al., 2020).

Активация TLRs внеклеточными НК, включая мРНК, играет существенную роль в индукции воспалительных процессов при нарушении целостности и функции различных тканей и органов. Хотя для отдельных мРНК экспериментально показано, что они являются лигандами для TLRs, их роль в активации TLR7/8 окончательно установлена в результате систематического исследования (Wallach et al., 2020). мРНК принимают участие в регуляции многих, если не всех, генов. Многие мРНК экспрессируются практически во всех тканях, тогда как некоторые из них – тканеспецифически. Специфичные для мышц miR-1, miR-133 и miR-206, вероятно, наиболее изучены и лучше всего охарактеризованы мРНК. Многие исследователи считают, что эти мРНК необходимы для правильного развития и функционирования скелетных и сердечных мышц и оказывают влияние на множественные миопатии, такие как гипер-, дистрофия и дефекты проводимости (Townley-Tilson et al., 2010).

Внеклеточные мРНК, функция которых связана с регуляцией экспрессии генов, в значительных концентрациях присутствуют в общей циркуляции (Shimada et al., 2020). При местном воздействии на пораженный участок миокарда мРНК (miR-1, miR-133, miR-208 и miR-499) перепро-

граммируют сердечные фибробласты в кардиомиоциты (Jayawardena et al., 2015), а находясь в экстраклеточных везикулах, могут быть важнейшими медиаторами регенерации сердца (Ibrahim et al., 2014).

В экспериментах на мышах показано, что транзиторная миокардиальная ишемия приводит к высвобождению клеточной РНК, включая миРНК, в общий кровоток. Секреция цитокинов, индуцированных миРНК (MIP-2, TNF- α и IL-6) в макрофагах и кардиомиоцитах *in vitro*, как и в клетках, дефицитных по TLR7 или MyD88, отменена антагонистом TLR7, но оставалась неизменной в клетках с дефицитом TLR3 или Trif. *In vivo* у мышей, которым вводили miR-133a или miR-146a, наблюдалась миграция перитонеальных нейтрофилов и моноцитов, которая была значительно ослаблена у мышей TLR7^{-/-}. По мнению авторов, эти данные показывают, что miR-34a, miR-122, miR-133a, miR-142, miR-146a и miR-208a, имитирующие экстраклеточные миРНК, являются мощными врожденными иммунными активаторами и что миРНК, скорее всего, индуцируют выработку цитокинов и миграцию лейкоцитов через передачу сигналов TLR7-MyD88 (Feng et al., 2017).

Сходные результаты получены в эксперименте на мышах с сепсисом с использованием экстраклеточных везикул, содержащих набор миРНК, из плазмы мышей с сепсисом (Xu et al., 2018). Результаты этих экспериментов указывали на то, что экстраклеточные везикулы плазмы животных с сепсисом играют важную роль в воспалении и экстраклеточные везикулы с миРНК, вероятно, опосредуют секрецию цитокинов посредством передачи сигналов TLR7-MyD88. Также показано, что экзосомная miR-146a-5p, полученная из кардиомиоцитов, может индуцировать воспалительную реакцию, стимулируя поляризацию макрофагов M1, а взаимодействуя с TRAF6, проявлять противовоспалительный эффект (Chen et al., 2022).

Из результатов этих экспериментов следует, что независимо от того, находятся они в экстраклеточных везикулах или нет, миРНК индуцируют воспаление через активацию TLR7. По аналогии с данными, полученными на клетках опухоли (Fabbri et al., 2012), можно полагать, что находящиеся внутри экстраклеточных везикул регуляторные миРНК переносятся в клетки поврежденных тканей и помимо регуляторных функций в качестве лигандов активируют TLR7, вызывая воспаление, которое может влиять на процессы регенерации ткани. Активировать TLR7 кроме миРНК, очевидно, могут и другие находящиеся в экстраклеточных везикулах НК.

Хотя, как указано выше, стерильное воспаление необходимо для регенерации ткани, результаты многих исследований свидетельствуют о негативных последствиях воспаления, которое индуцируется внеклеточной миРНК, в частности при экспериментальном инфаркте миокарда (Jian et al., 2019; Shimada et al., 2020). Исследования, проведенные на грызунах, показывают, что НК, включая миРНК, которые высвобождаются при повреждении тканей, могут способствовать усилению воспаления миокарда после ишемически-реперфузионного повреждения (Chen et al., 2014; Shimada et al., 2020). При этом системное введение РНКазы, направленное на снижение уровня внеклеточной РНК, при-

водило к уменьшению воспаления миокарда и размеров инфаркта (Cabrera-Fuentes et al., 2014; Chen et al., 2014). Активация TLR7 внеклеточной miR-146a-5p вызывает воспаление легких, нарушение эндотелиального барьера и способствует развитию острого респираторного дистресс-синдрома, связанного с сепсисом (Huang et al., 2022). Индукция воспаления и кардиометаболические нарушения также наблюдаются при активации TLR9 фрагментами вкДНК (Nishimoto et al., 2020). Специфические миРНК, высвобождаемые из апоптотических кортикальных нейронов, служат эндогенными лигандами TLR7/8 и тем самым запускают дальнейший апоптоз нейронов в ЦНС; эти результаты свидетельствуют о роли миРНК как внеклеточных сигнальных молекул, особенно в контексте нейродегенерации (Wallach et al., 2021).

В целом приведенные данные подтверждают, что высвобождаемые из поврежденных клеток НК через активацию TLRs индуцируют воспалительный процесс, необходимый для регенерации ткани. Однако воспалительный процесс, если он не прерван, может нарушить метаболизм и восстановление поврежденной ткани из-за неспособности перейти в фазу пролиферации. Это обстоятельство указывает на критическое значение перехода воспалительной фазы в пролиферативную, когда клетки иммунной системы секретуют противовоспалительные медиаторы и факторы роста, подавляющие воспаление и иницирующие пролиферацию (Wynn, Vannella, 2016). Возможно, что при этом в силу каких-либо причин может быть изменена функция макрофагов, экспрессирующих мембраносвязанный белок CD83. Как недавно продемонстрировано, экспрессия CD83 на мышечных макрофагах, стимулированных IL-4, играет ключевую роль в отмене воспаления и переходе провоспалительного фенотипа макрофагов в фенотип, связанный с регенерацией ткани (Peckert-Maier et al., 2023). В любом случае нарушение регуляции процесса воспаления, лимитирующее его отмену или переход в фазу пролиферации, может привести к ухудшению метаболизма и развитию различных патологий. Поэтому жесткая регуляция воспаления выступает непременным условием для нормального восстановления поврежденной ткани (Soliman, Barreda, 2022).

Список литературы / References

- Николин В.П., Попова Н.А., Себелева Т.Е., Стрункин Д.Н., Рогачев В.А., Семенов Д.В., Богачев С.С., Якубов Л.А., Шурдов М.А. Влияние экзогенной ДНК на восстановление лейкоцитов и противоопухолевое действие циклофосамида. *Вопросы онкологии*. 2006;52(3):336-340.
- [Nikolin V.P., Popova N.A., Sebeleva T.E., Strunkin D.N., Rogachev V.A., Semenov D.V., Bogachev S.S., Yakubov L.A., Shurdov M.A. Effect of exogenous DNA injection on leukopoietic repair and antitumor action of cyclophosphamide. *Voprosy Onkologii = Problems in Oncology*. 2006;52(3):336-340. (in Russian)]
- Arroyo J.D., Chevillet J.R., Kroh E.M., Ruf I.K., Pritchard C.C., Gibson D.F., Mitchell P.S., Bennett C.F., Pogosova-Agadjanyan E.L., Stirewalt D.L., Tait J.F., Tewari M. Argonaute2 complexes carry a population of circulating microRNAs independent of vesicles in human plasma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2011;108(12):5003-5008. DOI 10.1073/pnas.1019055108.
- Brinkmann V., Reichard U., Goosmann C., Fauler B., Uhlemann Y., Weiss D.S., Weinrauch Y., Zychlinsky A. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science*. 2004;303(5663):1532-1535. DOI 10.1126/science.1092385.

- Butt A.N., Swaminathan R. Overview of circulating nucleic acids in plasma/serum. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2008;1137:236-242. DOI 10.1196/annals.1448.002.
- Cabrera-Fuentes H.A., Ruiz-Meana M., Simsekylmaz S., Kostin S., Inserte J., Saffarzadeh M., Galuska S.P., Vijayan V., Barba I., Barreto G., Fischer S., Lochnit G., Ilinskaya O.N., Baumgart-Vogt E., Böning A., Lecour S., Hausenloy D.J., Liehn E.A., Garcia-Dorado D., Schlüter K.D., Preissner K.T. RNase1 prevents the damaging interplay between extracellular RNA and tumour necrosis factor- α in cardiac ischaemia/reperfusion injury. *Thromb. Haemost.* 2014;112(6):1110-1119. DOI 10.1160/TH14-08-0703.
- Chen C., Cai S., Wu M., Wang R., Liu M., Cao G., Dong M., Yiu K.H. Role of cardiomyocyte-derived exosomal microRNA-146a-5p in macrophage polarization and activation. *Dis. Markers.* 2022;2022:2948578. DOI 10.1155/2022/2948578.
- Chen C., Feng Y., Zou L., Wang L., Chen H.H., Cai J.Y., Xu J.M., Sosnovik D.E., Chao W. Role of extracellular RNA and TLR3-Trif signaling in myocardial ischemia-reperfusion injury. *J. Am. Heart Assoc.* 2014;3(1):e000683. DOI 10.1161/JAHA.113.000683.
- Ermakov A.V., Konkova M.S., Kostyuk S.V., Smirnova T.D., Malinovskaya E.M., Efremova L.V., Veiko N.N. An extracellular DNA mediated bystander effect produced from low dose irradiated endothelial cells. *Mutat. Res.* 2011;712(1-2):1-10. DOI 10.1016/j.mrfmmm.2011.03.002.
- Fabbri M., Paone A., Calore F., Galli R., Gaudio E., Santhanam R., Lovat F., Fadda P., Mao C., Nuovo G.J., Zanesi N., Crawford M., Ozer G.H., Wernicke D., Alder H., Caligiuri M.A., Nana-Sinkam P., Perrotti D., Croce C.M. MicroRNAs bind to Toll-like receptors to induce prometastatic inflammatory response. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2012;109(31):E2110-E2116. DOI 10.1073/pnas.1209414109.
- Feng Y., Zou L., Yan D., Chen H., Xu G., Jian W., Cui P., Chao W. Extracellular microRNAs induce potent innate immune responses via TLR7/MyD88-dependent mechanisms. *J. Immunol.* 2017;199(6):2106-2117. DOI 10.4049/jimmunol.1700730.
- Fischer S. Pattern recognition receptors and control of innate immunity: Role of nucleic acids. *Curr. Pharm. Biotechnol.* 2018;19(15):1203-1209. DOI 10.2174/138920112804583087.
- Gadi V.K., Nelson J.L., Boespflug N.D., Guthrie K.A., Kuhr C.S. Soluble donor DNA concentrations in recipient serum correlate with pancreas-kidney rejection. *Clin. Chem.* 2006;52(3):379-382. DOI 10.1373/clinchem.2005.058974.
- Gahan P.B., Stroun M. The virosome – a novel cytosolic informative entity and intercellular messenger. *Cell Biochem. Funct.* 2010;28(7):529-538. DOI 10.1002/cbf.1690.
- Gong T., Liu L., Jiang W., Zhou R. DAMP-sensing receptors in sterile inflammation and inflammatory diseases. *Nat. Rev. Immunol.* 2020;20(2):95-112. DOI 10.1038/s41577-019-0215-7.
- Huang H., Zhu J., Gu L., Hu J., Feng X., Huang W., Wang S., Yang Y., Cui P., Lin S.H., Suen A., Shimada B.K., Williams B., Kane M.A., Ke Y., Zhang C.O., Birukova A.A., Birukov K.G., Chao W., Zou L. TLR7 mediates acute respiratory distress syndrome in sepsis by sensing extracellular miR-146a. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2022;67(3):375-388. DOI 10.1165/rcmb.2021-0551OC.
- Ibrahim A.G., Cheng K., Marbán E. Exosomes as critical agents of cardiac regeneration triggered by cell therapy. *Stem Cell Rep.* 2014;2(5):606-619. DOI 10.1016/j.stemcr.2014.04.006.
- Jayawardena T.M., Finch E.A., Zhang L., Zhang H., Hodgkinson C.P., Pratt R.E., Rosenberg P.B., Mirotsov M., Dzau V.J. MicroRNA induced cardiac reprogramming in vivo: evidence for mature cardiac myocytes and improved cardiac function. *Circ. Res.* 2015;116(3):418-424. DOI 10.1161/CIRCRESAHA.116.304510.
- Jian W., Gu L., Williams B., Feng Y., Chao W., Zou L. Toll-like receptor 7 contributes to inflammation, organ injury, and mortality in murine sepsis. *Anesthesiology.* 2019;131(1):105-118. DOI 10.1097/ALN.0000000000002706.
- Kano N., Ong G.H., Ori D., Kawai T. Pathophysiological role of nucleic acid-sensing pattern recognition receptors in inflammatory diseases. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2022;12:910654. DOI 10.3389/fcimb.2022.910654.
- Kim D., Chen R., Sheu M., Kim N., Kim S., Islam N., Wier E.M., Wang G., Li A., Park A., Son W., Evans B., Yu V., Prizmic V.P., Oh E., Wang Z., Yu J., Huang W., Archer N.K., Hu Z., Clemetson N., Nelson A.M., Chien A., Okoye G.A., Miller L.S., Ghiaur G., Kang S., Jones J.W., Kane M.A., Garza L.A. Noncoding dsRNA induces retinoic acid synthesis to stimulate hair follicle regeneration via TLR3. *Nat. Commun.* 2019;10(1):2811. DOI 10.1038/s41467-019-10811-y.
- Kitai Y., Kawasaki T., Sueyoshi T., Kobiyama K., Ishii K.J., Zou J., Akira S., Matsuda T., Kawai T. DNA-containing exosomes derived from cancer cells treated with topotecan activate a STING-dependent pathway and reinforce antitumor immunity. *J. Immunol.* 2017;198(4):1649-1659. DOI 10.4049/jimmunol.1601694.
- Kluever A.K., Braumandl A., Fischer S., Preissner K.T., Deindl E. The extraordinary role of extracellular RNA in arteriogenesis, the growth of collateral arteries. *Int. J. Mol. Sci.* 2019;20(24):6177. DOI 10.3390/ijms20246177.
- Kopreski M.S., Benko F.A., Kwak L.W., Gocke C.D. Detection of tumor messenger RNA in the serum of patients with malignant melanoma. *Clin. Cancer Res.* 1999;5(8):1961-1965. PMID: 10473072.
- Kumar P., Dillon L.W., Shibata Y., Jazaeri A.A., Jones D.R., Dutta A. Normal and cancerous tissues release extrachromosomal circular DNA (eccDNA) into the circulation. *Mol. Cancer Res.* 2017;15(9):1197-1205. DOI 10.1158/1541-7786.MCR-17-0095.
- Lasch M., Kleinert E.C., Meister S., Kumaraswami K., Buchheim J.I., Grantzow T., Lautz T., Salpisti S., Fischer S., Troidl K., Fleming I., Randi A.M., Sperandio M., Preissner K.T., Deindl E. Extracellular RNA released due to shear stress controls natural bypass growth by mediating mechanotransduction in mice. *Blood.* 2019;134(17):1469-1479. DOI 10.1182/blood.2019001392.
- Lee M.S., Kim Y.J. Signaling pathways downstream of pattern-recognition receptors and their cross talk. *Annu. Rev. Biochem.* 2007;76:447-480. DOI 10.1146/annurev.biochem.76.060605.122847.
- Leon S.A., Shapiro B., Sklaroff D.M., Yaros M.J. Free DNA in the serum of cancer patients and the effect of therapy. *Cancer Res.* 1977;37(3):646-650.
- Likhacheva A.S., Nikolin V.P., Popova N.A., Rogachev V.A., Prokhorovich M.A., Sebeleva T.E., Bogachev S.S., Shurdov M.A. Exogenous DNA can be captured by stem cells and be involved in their rescue from death after lethal-dose γ -radiation. *Gene Ther. Mol. Biol.* 2007;11(2):305-314.
- Lo Y.M., Corbetta N., Chamberlain P.F., Rai V., Sargent I.L., Redman C.W., Wainscoat J.S. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet.* 1997;350(9076):485-487. DOI 10.1016/S0140-6736(97)02174-0.
- Majer O., Liu B., Barton G.M. Nucleic acid-sensing TLRs: trafficking and regulation. *Curr. Opin. Immunol.* 2017;44:26-33. DOI 10.1016/j.coi.2016.10.003.
- Mandel P., Metais P. Detection of free-circulating nucleic acids in blood plasma. *C. R. Acad. Sci. Paris.* 1948;142:241-243.
- Marsman G., Zeerleder S., Luken B.M. Extracellular histones, cell-free DNA, or nucleosomes: differences in immunostimulation. *Cell Death Dis.* 2016;7(12):e2518. DOI 10.1038/cddis.2016.410.
- Meylan E., Tschopp J., Karin M. Intracellular pattern recognition receptors in the host response. *Nature.* 2006;442(7098):39-44. DOI 10.1038/nature04946.
- Masucci M.T., Minopoli M., Del Vecchio S., Carriero M.V. The emerging role of neutrophil extracellular traps (NETs) in tumor progression and metastasis. *Front. Immunol.* 2020;11:1749. DOI 10.3389/fimmu.2020.01749.
- Nagata S., Hanayama R., Kawane K. Autoimmunity and the clearance of dead cells. *Cell.* 2010;140(5):619-630. DOI 10.1016/j.cell.2010.02.014.
- Nelson A.M., Reddy S.K., Ratliff T.S., Hossain M.Z., Katseff A.S., Zhu A.S., Chang E., Resnik S.R., Page C., Kim D., Whittam A.J., Miller L.S., Garza L.A. dsRNA released by tissue damage activates TLR3 to drive skin regeneration. *Cell Stem Cell.* 2015;17(2):139-151. DOI 10.1016/j.stem.2015.07.008.
- Nishimoto S., Fukuda D., Sata M. Emerging roles of Toll-like receptor 9 in cardiometabolic disorders. *Inflamm. Regen.* 2020;40:18. DOI 10.1186/s41232-020-00118-7.
- Noll F., Behnke J., Leiting S., Troidl K., Alves G.T., Müller-Redetzky H., Preissner K.T., Fischer S. Self-extracellular RNA acts in synergy with exogenous danger signals to promote inflammation. *PLoS One.* 2017;12(12):e0190002. DOI 10.1371/journal.pone.0190002.
- Orishchenko K.E., Ryzhikova S.L., Druzhinina Y.G., Ryabicheva T.G., Varaksin N.A., Alyamkina E.A., Dolgova E.V., Rogachev V.A., Proskurina A.S., Nikolin V.P., Popova N.A., Strunov A.A., Kiseleva E.V., Leplina O.Y., Ostani A.A., Chernykh E.R., Sidorov S.V., Mayorov V.I., Bogachev S.S., Shurdov M.A. Effect of human double-stranded DNA preparation on

- the production of cytokines by dendritic cells and peripheral blood cells from relatively healthy donors. *Cancer Ther.* 2013;8:191-205.
- Peckert-Maier K., Langguth P., Strack A., Stich L., Mühl-Zürbes P., Kuhnt C., Drassner C., Zinser E., Wrage M., Mattner J., Steinkasserer A., Royzman D., Wild A.B. CD83 expressed by macrophages is an important immune checkpoint molecule for the resolution of inflammation. *Front. Immunol.* 2023;14:1085742. DOI 10.3389/fimmu.2023.1085742.
- Peters D.L., Pretorius P.J. Origin, translocation and destination of extracellular occurring DNA – a new paradigm in genetic behaviour. *Clin. Chim. Acta.* 2011;412(11-12):806-811. DOI 10.1016/j.cca.2011.01.026.
- Pös O., Biró O., Szemes T., Nagy B. Circulating cell-free nucleic acids: characteristics and applications. *Eur. J. Hum. Genet.* 2018;26(7):937-945. DOI 10.1038/s41431-018-0132-4.
- Ramasubramanian B., Kim J., Ke Y., Li Y., Zhang C.O., Promnares K., Tanaka K.A., Birukov K.G., Karki P., Birukova A.A. Mechanisms of pulmonary endothelial permeability and inflammation caused by extracellular histone subunits H3 and H4. *FASEB J.* 2022;36(9):e22470. DOI 10.1096/fj.202200303RR.
- Ritter G.S., Nikolin V.P., Popova N.A., Proskurina A.S., Kisaretova P.E., Taranov O.S., Dubatolova T.D., Dolgova E.V., Pötter E.A., Kirikovich S.S., Efremov Y.R., Bayborodin S.I., Romanenko M.V., Meschaninova M.I., Venyaminova A.G., Kolchanov N.A., Shurdov M.A., Bogachev S.S. Characterization of biological peculiarities of the radioprotective activity of double-stranded RNA isolated from *Saccharomyces cerevisiae*. *Int. J. Radiat. Biol.* 2020;96(9):1173-1191. DOI 10.1080/09553002.2020.1793020.
- Rykova E.Yu., Pautova L.V., Yakubov L.A., Karamyshev V.N., Vlassov V.V. Serum immunoglobulins interact with oligonucleotides. *FEBS Lett.* 1994;344(1):96-98. DOI 10.1016/0014-5793(94)00360-2.
- Shimada B.K., Yang Y., Zhu J., Wang S., Suen A., Kronstadt S.M., Jeyaram A., Jay S.M., Zou L., Chao W. Extracellular miR-146a-5p induces cardiac innate immune response and cardiomyocyte dysfunction. *Immunohorizons.* 2020;4(9):561-572. DOI 10.4049/immunohorizons.2000075.
- Snyder M.W., Kircher M., Hill A.J., Daza R.M., Shendure J. Cell-free DNA comprises an in vivo nucleosome footprint that informs its tissues-of-origin. *Cell.* 2016;164(1-2):57-68. DOI 10.1016/j.cell.2015.11.050.
- Soliman A.M., Barreda D.R. Acute inflammation in tissue healing. *Int. J. Mol. Sci.* 2022;24(1):641. DOI 10.3390/ijms24010641.
- Stroun M., Anker P., Maurice P., Gahan P.B. Circulating nucleic acids in higher organisms. *Int. Rev. Cytol.* 1977;51:1-48. DOI 10.1016/s0074-7696(08)60225-9.
- Tan E.M., Schur P.H., Carr R.I., Kunkel H.G. Deoxybonucleic acid (DNA) and antibodies to DNA in the serum of patients with systemic lupus erythematosus. *J. Clin. Invest.* 1966;45(11):1732-1740. DOI 10.1172/JCI105479.
- Townley-Tilson W.H., Callis T.E., Wang D. MicroRNAs 1, 133, and 206: critical factors of skeletal and cardiac muscle development, function, and disease. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2010;42(8):1252-1255. DOI 10.1016/j.biocel.2009.03.002.
- Tong Y.K., Lo Y.M. Diagnostic developments involving cell-free (circulating) nucleic acids. *Clin. Chim. Acta.* 2006;363(1-2):187-196. DOI 10.1016/j.cccn.2005.05.048.
- Turchinovich A., Weiz L., Langheinz A., Burwinkel B. Characterization of extracellular circulating microRNA. *Nucleic Acids Res.* 2011;39(16):7223-7233. DOI 10.1093/nar/gkr254.
- Valadi H., Ekström K., Bossios A., Sjöstrand M., Lee J.J., Lötvall J.O. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat. Cell Biol.* 2007;9(6):654-659. DOI 10.1038/ncb1596.
- Wallach T., Mossmann Z.J., Szczepek M., Wetzel M., Machado R., Raden M., Miladi M., Kleinau G., Krüger C., Dembny P., Adler D., Zhai Y., Kumbol V., Dzaye O., Schüler J., Futschik M., Backofen R., Scheerer P., Lehnardt S. MicroRNA-100-5p and microRNA-298-5p released from apoptotic cortical neurons are endogenous Toll-like receptor 7/8 ligands that contribute to neurodegeneration. *Mol. Neurodegener.* 2021;16(1):80. DOI 10.1186/s13024-021-00498-5.
- Wallach T., Wetzel M., Dembny P., Staszewski O., Krüger C., Buonfiglioli A., Prinz M., Lehnardt S. Identification of CNS injury-related microRNAs as novel Toll-like receptor 7/8 signaling activators by small RNA sequencing. *Cells.* 2020;9(1):186. DOI 10.3390/cells9010186.
- Wang K., Zhang S., Weber J., Baxter D., Galas D.J. Export of microRNAs and microRNA-protective protein by mammalian cells. *Nucleic Acids Res.* 2010;38(20):7248-7259. DOI 10.1093/nar/gkq601.
- Wier E.M., Garza L.A. Through the lens of hair follicle neogenesis, a new focus on mechanisms of skin regeneration after wounding. *Semin. Cell Dev. Biol.* 2020;100:122-129. DOI 10.1016/j.semcdb.2019.10.002.
- Wynn T.A., Vannella K.M. Macrophages in tissue repair, regeneration, and fibrosis. *Immunity.* 2016;44(3):450-462. DOI 10.1016/j.immuni.2016.02.015.
- Xu J., Feng Y., Jeyaram A., Jay S.M., Zou L., Chao W. Circulating plasma extracellular vesicles from septic mice induce inflammation via MicroRNA- and TLR7/dependent mechanisms. *J. Immunol.* 2018;201(11):3392-3400. DOI 10.4049/jimmunol.1801008.
- Yu Y., Su K. Neutrophil extracellular traps and systemic lupus erythematosus. *J. Clin. Cell Immunol.* 2013;4:139. DOI 10.4172/2155-9899.1000139.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 24.04.2023. После доработки 31.05.2023. Принята к публикации 01.06.2023.

«Письма в Вавиловский журнал генетики и селекции» – сетевое научное издание открытого доступа. Основано в 2015 году (до 2019 года выходило под названием «Письма в Вавиловский журнал»). На страницах издания публикуются результаты экспериментальных, методических и теоретических исследований, аналитические обзоры по всем разделам генетики и селекции, а также по смежным областям биологических и сельскохозяйственных наук; материалы и документы по истории генетики и селекции; описания сортов растений и пород животных; рецензии; письма, адресованные редактору; персоналии и мемориальные статьи; хроника и информация из региональных отделений Вавиловского общества генетиков и селекционеров.

Цель издания – донести новейшие результаты фундаментальных и прикладных исследований в области генетики растений, животных, человека, микроорганизмов, описание новых методов и селекционных достижений до наибольшего числа ученых, включая специалистов из смежных областей науки и техники, а также до преподавателей вузов, читающих курсы лекций по генетике и селекции.

«Письма в Вавиловский журнал генетики и селекции» включены в [Перечень рецензируемых научных изданий](#), в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, по специальностям и отраслям науки (с 15.06.2023):

- 1.5.7. Генетика (биологические науки)
- 1.5.22. Клеточная биология (биологические науки)
- 4.1.2. Селекция, семеноводство и биотехнология растений (биологические науки)
- 4.1.2. Селекция, семеноводство и биотехнология растений (сельскохозяйственные науки)

Индексируется в РИНЦ, включен в DOAJ.

Регистрационное свидетельство СМИ Эл № ФС77-75536 выдано 08 мая 2019 года Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор).

Прием статей осуществляется через электронную почту редакции: pismavavilov@bionet.nsc.ru

Адрес издания в сети интернет: <https://pismavavilov.ru/>

При перепечатке материалов ссылка на журнал обязательна.

Учредитель и издатель: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (ИЦиГ СО РАН)
Почтовый адрес учредителя и издателя: проспект Академика Лаврентьева, 10, Новосибирск, 630090
Почтовый адрес редакции: проспект Академика Лаврентьева, 10, Новосибирск, 630090
Телефон редакции: (383) 363 4963, доб. 5316
✉ Электронный адрес редакции: pismavavilov@bionet.nsc.ru

Выпуск подготовлен информационно-издательским отделом ИЦиГ СО РАН.

Дата публикации: 10.07.2023