


DOI 10.18699/vjgb-24-56

Сравнительное изучение прорастания семян пшеницы, различающихся антоциановой окраской перикарпа, в условиях естественного и индуцированного старения

Е.И. Гордеева  , О.Ю. Шоева , Е.К. Хлесткина ^{1, 2}

¹ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

² Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР), Санкт-Петербург, Россия

 elgordeeva@bionet.nsc.ru

Аннотация. Одним из перспективных направлений селекции пшеницы является получение сортов с повышенным содержанием антоцианов в зерновке для производства функциональных продуктов питания. Однако вопрос о том, как эти соединения влияют на жизнеспособность семян после длительного хранения, оставался неизученным. Сравнительное исследование жизнеспособности семян было проведено с использованием набора почти изогенных линий пшеницы сорта Саратовская 29. Эти сестринские линии имеют различные сочетания рекомбинантных участков ДНК в хромосомах 2A и 7D с доминантными и рецессивными аллелями генов *Pp3* и *Pp-D1* (*Pp*, *Purple pericarp*), контролирующих антоциановую окраску coleoptiles и околоплодника. Семена проращивали в чашках Петри на увлажненной фильтровальной бумаге в климатической камере при постоянной температуре 20 °C с 12-часовым циклом дневного освещения. При длительном естественном хранении семян до 9 лет в сухом проветриваемом помещении в крафт-пакетах при температуре 20 ± 2 °C у испытанных образцов пшеницы происходила потеря всхожести до 50 %. При этом положительного влияния наличия антоцианов в зерне на сохранение всхожести не выявлено. Однако антоцианы способствовали сохранению жизнеспособности зерен в неблагоприятных кратковременных условиях повышения температуры до 48 °C и 100 % влажности. Тест на индуцированное старение не позволил предсказать ухудшение прорастания после длительного хранения семян. Результаты исследования показали нейтральную роль антоцианов в сохранении прорастания семян в течение 6–9 лет в естественных условиях хранения при 20 ± 2 °C. Небольшое статистически достоверное повышение всхожести зерен при естественном старении было связано с наличием рекомбинантного участка в хромосоме 7D пшеницы, содержащего ген *Pp-D1*.

Ключевые слова: пшеница; антоцианы; естественное старение; жизнеспособность семян.

Для цитирования: Гордеева Е.И., Шоева О.Ю., Хлесткина Е.К. Сравнительное изучение прорастания семян пшеницы, различающихся антоциановой окраской перикарпа, в условиях естественного и индуцированного старения. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2024;28(5):495-505. DOI 10.18699/vjgb-24-56

Финансирование. Работа поддержана грантом РНФ 21-76-10024.


Благодарности. Авторы выражают благодарность Елене Валерьевне Антоновой (ИЭРиЖ УрО РАН, Екатеринбург) за помощь в регрессионном анализе, Галине Владимировне Генераловой (ИЦиГ СО РАН, Новосибирск) и Ольге Викторовне Захаровой (ИЦиГ СО РАН, Новосибирск) за техническую поддержку.

A comparative study on germination of wheat grains with different anthocyanin pigmentation of the pericarp in natural or induced aging

E.I. Gordeeva  , O.Y. Shoeva , E.K. Khlestkina ^{1, 2}

¹ Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

² N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), St. Petersburg, Russia

 elgordeeva@bionet.nsc.ru

Abstract. One of promising areas of wheat breeding is the creation of varieties with a high concentration of anthocyanins in the grain for the production of functional food products. Nonetheless, the question of how these compounds affect seed viability after long-term storage has remained unexplored. A comparative study on seed viability was conducted using a set of near-isogenic lines on the background of spring wheat variety *Saratovskaya 29*. These sister lines carry different combinations of recombinant DNA regions (on chromosomes 2A and 7D) containing dominant and recessive alleles at loci *Pp3* and *Pp-D1* (*Pp*: *Purple pericarp*), which determine the anthocyanin color of coleoptiles and of the pericarp. Seeds were germinated on two layers of water-moistened filter paper in a climatic chamber at a constant temperature of 20 °C on a 12-hour daylight cycle. During long-term natural storage of the seeds for up to

9 years in a dry ventilated room in Kraft bags at 20 ± 2 °C, the tested wheat samples experienced a loss of seed germination capacity of ~50 %; anthocyanins were found to not participate in the preservation of germination capacity. Nonetheless, anthocyanins contributed to the preservation of seed viability under unfavorable short-term conditions of a temperature rise to 48 °C at 100 % humidity. The accelerated aging test did not predict poor germination capacity after long-term seed storage. The results showed a neutral role of anthocyanins in the maintenance of seed germination capacity for 6–9 years under natural storage conditions at 20 ± 2 °C. A small statistically significant increase in grain germination capacity during natural aging was associated with the presence of a recombinant region containing the *Pp-D1* gene on wheat chromosome 7D.

Key words: wheat; anthocyanin; natural aging; seed germination.

For citation: Gordeeva E.I., Shoeva O.Y., Khlestkina E.K. A comparative study on germination of wheat grains with different anthocyanin pigmentation of the pericarp in natural or induced aging. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2024;28(5):495-505. DOI 10.18699/vjgb-24-56

Введение

Мягкая пшеница – одна из важнейших зерновых культур, обеспечивающих продовольственную безопасность страны. В настоящее время растет интерес к выращиванию пшеницы с высоким содержанием антоцианов в оболочках зерна не только как ресурса стрессоустойчивости и адаптивности растений (Kaur et al., 2023), но и как источника полезного для здоровья человека функционального питания и возможного терапевтического средства (Юдина и др., 2021; Liu et al., 2021; Loskutov, Khlestkina, 2021; Garg et al., 2022).

Антоцианы – растительные пигменты, относящиеся к классу флавоноидных соединений (Patra et al., 2022). Они принимают участие в защите растений от избыточного ультрафиолетового излучения, от патогенов, играют роль аттрактантов в привлечении насекомых и животных для опыления цветков и распространения семян (Corso et al., 2020). Являясь биологически активными вторичными метаболитами, антоцианы обладают антиоксидантными свойствами и способны нейтрализовать повреждающие клетки активные формы кислорода (АФК), которые накапливаются во время нормального метаболизма или стресса (Shen et al., 2022). Несмотря на выведение селекционерами сортов пшеницы, накапливающих антоциановые пигменты в зерновках, остается неизученной связь между биосинтезом этих соединений и их защитно-приспособительными экологическими функциями, механизмами поддержания жизнеспособности семян, т.е. способностью давать нормальные проростки при благоприятных условиях после длительного хранения.

Пшеница, как и большинство покрытосеменных растений, распространенных в регионах с умеренным климатом со значительными сезонными колебаниями температуры, имеет ортодоксальные, толерантные к высушиванию, созревшие семена. Содержание влаги в них опускается ниже 10 %, что снижает клеточную активность (подвижность молекул) внутри семян до минимального уровня и позволяет поддерживать жизнеспособные покоящиеся зародыши в состоянии анабиоза в течение длительного периода времени (Гурьева и др., 2021). Такое состояние минимальной клеточной активности представляет собой весьма успешную стратегию выживания растений в неблагоприятных условиях окружающей среды, тем самым продлевая их долголетие.

Долговечность семян – полигенный признак, регулируемый сложным взаимодействием изменяющихся фак-

торов окружающей среды (таких как температура, относительная влажность, парциальное давление кислорода) с эндогенными, генетически контролируемыми факторами растений. К последним относятся структура семенной оболочки, концентрация АФК, целостность фосфолипидных оболочек, белков, нуклеиновых кислот и связанных с ними систем репарации, энергетических запасов сахаров в эндосперме, баланс фитогормонов покоя и прорастания семян (Zhou W. et al., 2020).

Молекулярные механизмы, лежащие в основе процессов жизнеспособности и долговечности семян, интенсивно изучаются в настоящее время (Li et al., 2022; Stegner et al., 2022). Известно, что стадию покоя семян контролирует фитогормон абсцизовая кислота и, напротив, в прорастании семян участвуют фитогормоны гиббереллины, антагонисты абсцизовой кислоты (Longo et al., 2020). Растительные гормоны вместе с АФК, такими как супероксид-анион, перекись водорода, гидроксильные и пероксильные радикалы, являются частью регуляторной сигнальной системы восприятия и адаптации к стрессу метаболизма растений, участвуют в контроле процессов роста и развития, а также в защите от патогенов (Kurek et al., 2019; Considine, Foyer, 2021). Например, перекись водорода вызывает катаболизм абсцизовой кислоты и стимулирует биосинтез гиббереллинов, тем самым способствуя выходу из состояния покоя и запуская процесс прорастания семян (Chen et al., 2018). Регуляция накопления АФК должна находиться под строгим контролем антиоксидантов. При нарушении баланса между про- и антиоксидантными процессами запускается окислительный стресс, вызывающий модификации белков, перекисное окисление липидов, повреждение мембран с повышенной утечкой электролитов и деградацией митохондрий, повреждение ДНК и РНК, что ведет к гибели клеток и в конечном итоге к потере жизнеспособности семян (Kurek et al., 2019; Li et al., 2022).

Для поддержания гомеостаза и подавления избыточного уровня АФК растения активируют внутренние системы защиты, включающие ферментативные и неферментативные антиоксиданты (Kumar et al., 2020). К ферментативным антиоксидантам относятся супероксиддисмутаза, каталаза, ферменты глутатион-аскорбатного цикла, активность которых резко снижается в сухих семенах из-за вязкости цитоплазмы. Неферментативная антиоксидантная система представлена молекулами аскорбиновой кислоты, глутатионом, липофильными токоферолами (витамин Е),

каротиноидами и большой группой фенольных соединений (Dogra, Kim, 2020; Kumar et al., 2020; Dumanović et al., 2021).

Жизнеспособность семян тесно связана с морфологическим строением семенной оболочки и концентрацией в ней фенольных соединений (Sano et al., 2016). Семенная оболочка играет роль физического барьера от внешних неблагоприятных воздействий, ограничивая поглощение воды, поражение грибами и микробами (Rathod et al., 2017; Zhou W. et al., 2020). У мутантных растений *Arabidopsis thaliana* дефекты флавоноидной пигментации снижали проницаемость семенной оболочки и, как следствие, влияли на сохранность семян (Sano et al., 2016). Так, при изучении мутантов *tt2*, *tt10* и *tt12* была выявлена связь между снижением концентрации пигментированных полимерных флавоноидов проантоцианидинов, находящихся в эндотелии семенной оболочки и в клетках халазы, и укорочением продолжительности жизни семян (Debeaujon et al., 2001). Мутанты *tt10* демонстрировали фенотип замедленного побурения семенной оболочки, связанного с образованием конденсированных танинов под действием продукта гена *TRANSPARENT TESTA 10 (TT10)*, кодирующего лакказоподобную 15-флавоноидоксидазу (*AtLAC15*), и сопутствующее снижение покоя и продолжительности жизни семян (Pourcel et al., 2007).

Синтез флавонолов и проантоцианидинов, являющихся предшественниками высокополимеризованных нерастворимых пигментов, в семенной оболочке зерновок краснозерной пшеницы влияет на усиление покоя и устойчивости к прорастанию перед сбором урожая в сравнении с белозерными формами (Kohyama et al., 2017; Mares, Nimi, 2021). Полифенолы имеют положительную связь с контролем покоя семян благодаря их влиянию на транскрипцию генов, связанных с выработкой фитогормонов абсцизовой, салициловой и жасмоновой кислот, гиббереллинов и полиэтилена, а также удалением АФК (Shah et al., 2018; Zhou G. et al., 2023). Было показано, что водорастворимые фенольные соединения в оболочке зерновок пшеницы действуют как эндогенные ингибиторы

на процессы прорастания, частично подавляя активацию пероксидазы (Kong et al., 2008).

При повышении температуры хранения и высокой влажности процессы окисления жиров, белков и нарушения целостности нуклеиновых кислот ускоряются, а долговечность семян заметно снижается (Zhou W. et al., 2020). Таким образом, можно имитировать естественное старение семян. Это явление было использовано для разработки метода «ускоренного индуцированного старения» (accelerated ageing test, АА-тест) (Rehman Arif et al., 2012; Hay et al., 2019). Тесты на энергию прорастания и жизнеспособность семян были проверены и включены в Правила тестирования семян Международной ассоциации тестирования семян (ISTA) (International Rules..., 2004).

Цель представленной работы – сравнительное исследование жизнеспособности семян почти изогенных линий пшеницы, отличающихся наличием рекомбинантных участков в хромосомах 2А и 7D, которые несут гены *Pp* (*Purple pericarp*), регулирующие биосинтез антоцианов в перикарпе зерновки, после естественного длительного хранения и искусственно индуцированного старения семян. Это позволит ответить на вопрос, влияет ли накопление в перикарпе зерновок пшеницы антоцианов, обладающих антиоксидантными свойствами, на долговечность семян.

Материалы и методы

Растительный материал. Всхожесть семян оценивали у семи сестринских почти изогенных линий пшеницы (near isogenic lines, NIL), созданных на основе ярового сорта мягкой пшеницы Саратовская 29 (С29/С29) путем скрещиваний с донорами доминантных аллелей генов *Pp*, сортами Purple (P) и Purple Feed (PF), и отбором фиолетовозерных гибридных растений в поколении BC₈₋₉F₂ (Arbuzova et al., 1998; Gordeeva et al., 2015). Данные линии характеризуются наличием в хромосомах 2А и 7D рекомбинантных участков ДНК, унаследованных от линий доноров, содержащих гены *Pp3* и *Pp-D1* (Tereshchenko et al., 2012; Gordeeva et al., 2015). Краткое описание линий приведено в табл. 1 и на рис. 1.

Таблица 1. Образцы пшеницы, используемые в данной работе

Номер сорта/линии	Сорт/линия (полное название)	Сокращенное название	Краткое описание
1	Саратовская 29/ cv. Saratovskaya 29 <i>S29pp3pp-D1</i>	C29/S29	Краснозерный яровой сорт
2	<i>i:S29Pp3^Ppp-D1</i>	C29Pp3 ^P	Краснозерная изогенная линия С29 с рекомбинантным участком в хромосоме 2А, несущим доминантный аллель гена <i>Pp3</i> от сорта Purple
3	<i>i:S29pp3Pp-D1^P</i>	C29Pp-D1 ^P	Краснозерная изогенная линия С29 с рекомбинантным участком в хромосоме 7D, несущим доминантный аллель гена <i>Pp-D1</i> от сорта Purple
4	<i>i:S29Pp3^PPp-D1^P</i>	C29Pp3Pp-D1 ^P	Фиолетовозерная изогенная линия С29 с двумя рекомбинантными участками в хромосомах 2А и 7D, несущими доминантные аллели генов <i>Pp3</i> и <i>Pp-D1</i> от сорта Purple
5	<i>i:S29Pp3^{PF}pp-D1</i>	C29Pp3 ^{PF}	Краснозерная изогенная линия С29 с рекомбинантным участком в хромосоме 2А, несущим доминантный аллель гена <i>Pp3</i> от сорта Purple Feed
6	<i>i:S29pp3Pp-D1^{PF}</i>	C29Pp-D1 ^{PF}	Краснозерная изогенная линия С29 с рекомбинантным участком в хромосоме 7D, несущим доминантный аллель гена <i>Pp-D1</i> от сорта Purple Feed
7	<i>i:S29Pp3^{PF}Pp-D1^{PF}</i>	C29Pp3Pp-D1 ^{PF}	Фиолетовозерная изогенная линия С29 с двумя рекомбинантными участками в хромосомах 2А и 7D, несущими доминантные аллели генов <i>Pp</i> от сорта Purple Feed

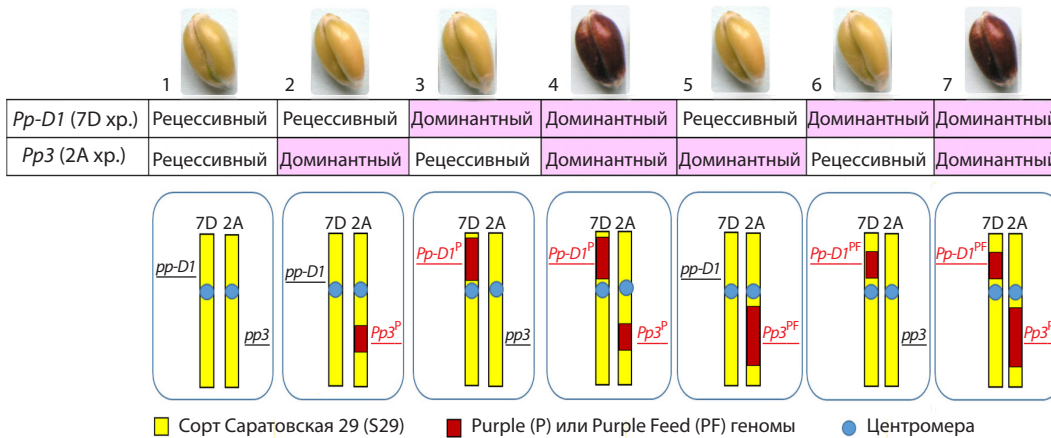


Рис. 1. Зерна и схематическое изображение хромосом 2A и 7D, несущих рекомбинантные участки, содержащие регуляторные гены биосинтеза антоцианов, у сестринских линий пшеницы, используемых в тестах естественного старения.

При подборе условий ускоренного индуцированного старения (АА-тест) использовались семена краснозерного озимого сорта Мироновская 808, белозерного ярового сорта Новосибирская 67 и краснозерных яровых сортов Саратовская 29 и Chinese Spring из коллекции ГенАгро (ИЦиГ СО РАН, Новосибирск).

Метод ускоренного старения семян. Для индуцированного старения семян был применен АА-тест, разработанный международной организацией по тестированию семян ISTA, с модификациями. Семена сортов Мироновская 808, Новосибирская 67, Саратовская 29, Chinese Spring, выращенные при одинаковых условиях одной вегетации в гидропонной теплице, использовались для подбора температурных условий АА-теста.

Пятьдесят семян каждого генотипа в трех повторностях было помещено на нержавеющие металлические сетки, расположенные над дистиллированной водой в закрытых водонепроницаемой пленкой пластиковых стаканах. Стаканы выдержали при температуре 42, 44, 46 и 48 °С либо при 20 °С (контроль) и влажности 100 % в течение 72 ч в климатической камере Rubarth Apparate (RUMED GmbH, Германия). Затем семена переносили в квадратные чашки Петри размером 24×24 см на двухслойную влажную фильтровальную бумагу и помещали в климатическую камеру при 20 °С с 12-часовым режимом освещения для прорастания. Энергию прорастания семян (в процентах) определяли как отношение количества семян, проросших за 72 ч (на третий день), к общему количеству анализируемых семян в трех повторях. Жизнеспособность семян (в процентах) определяли как количество проросших семян через семь дней к общему числу анализируемых семян в трех повторях. Учитывались только здоровые и зеленые саженцы с нормальной корневой системой, без аномалий (ГОСТ 12038-84) (рис. 2).

Индекс прорастания (жизнеспособности) после искусственного старения рассчитывали по формуле:

$$\text{Индекс прорастания, \%} = \frac{\text{Кол-во жизнеспособных зерен после обработки } 48\text{ }^{\circ}\text{C}}{\text{Кол-во жизнеспособных зерен в контроле при } 20\text{ }^{\circ}\text{C}} \times 100\text{ \%}$$

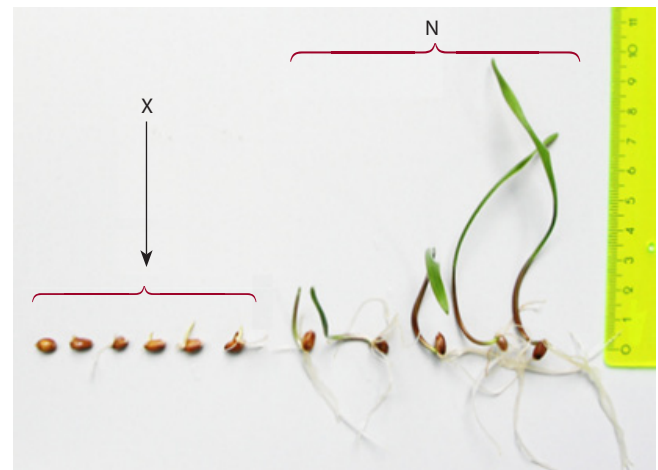


Рис. 2. Характеристики проростков после стандартного теста на всхожесть.

X – аномальное прорастание, N – нормальная всхожесть.

По результатам оценки была выбрана температура для проведения АА-теста на изучаемых почти изогенных линиях сорта Саратовская 29. Семена этих линий были собраны в 2012 г. после весенней вегетации в теплице либо на экспериментальном участке селекционно-генетического комплекса ИЦиГ СО РАН. До начала эксперимента семена хранились два месяца в крафт-пакетах при температуре 20±2 °С. АА-тест проводили аналогично эксперименту по подбору условий, за исключением того, что вместо пятидесяти брали сто семян каждого генотипа. Достоверность различий между родительским сортом С29 и сестринскими почти изогенными линиями проверяли, используя три биологических повтора и критерий Манна–Уитни (U-тест). При $p < 0.05$ различия считали достоверными.

Естественное старение зерен. Для тестирования всхожести в условиях естественного старения семена изучаемых линий собирали с растений, выращиваемых в теплице ИЦиГ СО РАН с 2014 по 2017 г. и в 2021 г. (для контроля).

Семена хранили в пакетах из крафт-бумаги при температуре 20 ± 2 °С. Всхожесть тестировали в 2023 г., после 6–9 лет хранения. В качестве контроля использовали семена после двухлетнего хранения.

Сто семян каждой почти изогенной линии в трех повторностях проращивали в квадратных чашках Петри размером 24×24 см на двух слоях увлажненной фильтровальной бумаги. Чашки Петри помещали в климатическую камеру Rubarth Apparate, выдерживали 24 ч при температуре 4 °С в темноте для синхронизации прорастания, а затем проращивали при постоянной температуре 20 °С с 12-часовым циклом дневного и ночного освещения. Энергию прорастания и жизнеспособность семян оценивали соответственно через три и семь дней после начала прорастания. Энергию прорастания семян (в процентах) вычисляли как отношение количества семян, проросших за 72 ч (на третий день), к общему количеству анализируемых семян в трех повторях. Жизнеспособность семян (в процентах) определяли как количество проросших семян через семь дней к общему числу анализируемых семян в трех повторях. Достоверность различий между родительским сортом Саратовская 29 и сестринскими почти изогенными линиями проверяли, используя три биологических повтора и критерий Манна–Уитни (U-тест). При $p < 0.05$ различия считали достоверными.

Результаты

Прорастание семян после индуцированного старения

Для подбора условий АА-теста была протестирована всхожесть у четырех сортов мягкой пшеницы после температурной обработки семян при 42, 44, 46 и 48 °С и

повышенной влажности воздуха в течение 72 ч (табл. 2). Сорта Саратовская 29 и Chinese Spring сохраняли всхожесть 100 % при повышении температуры вплоть до 46 °С, тогда как всхожесть сортов Мироновская 808 и Новосибирская 69 при этой же температуре снижалась до 78 и 96 % соответственно. При дальнейшем повышении температуры на два градуса у всех сортов отмечено снижение всхожести. Так, всхожесть зерновок краснозерного озимого сорта Мироновская 808 составила 52 %, белозерного ярового сорта Новосибирская 67 – 64 %. У яровых краснозерных сортов Саратовская 29 и Chinese Spring после такой температурной обработки всхожесть составила 87 и 86 % соответственно. Поскольку именно после температурной обработки при 48 °С все сорта продемонстрировали снижение всхожести и различия по этому параметру, дальнейшее сравнительное исследование всхожести в АА-тесте у почти изогенных линий, различающихся наличием антоциановой пигментации зерна, проводили при данной температуре.

Результаты АА-теста сорта Саратовская 29 и двух почти изогенных линий с антоциановыми пигментами в перикарпе *C29Pp3Pp-D1^P* и *C29Pp3Pp-D1^{PF}* представлены в табл. 3. После искусственного старения всхожесть зерновок сорта Саратовская 29 упала на 19 %, тогда как у фиолетовозерных линий данный показатель снизился на 4 %. Индексы прорастания зерна почти изогенных линий пшеницы были в 1.2 раза выше, чем индекс прорастания неокрашенных антоцианами семян сорта Саратовская 29.

Одновременно была протестирована всхожесть зерен, собранных с растений изучаемых линий пшеницы, выращенных в поле. После АА-теста жизнеспособность полевых зерновок была ниже в два раза по сравнению с се-

Таблица 2. Число жизнеспособных зерен пшеницы, хранившихся 2 года при 20 ± 2 °С, после искусственного старения

Сорт	Тип вегетации	Всхожесть 3×50 семян через 7 дней, %				
		Контроль 20 °С	После температурной обработки и 100 % влажности в течение 72 ч			
			42 °С	44 °С	46 °С	48 °С
Саратовская 29 (C29)	Яровая краснозерная	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0 ^b	87 ± 1 ^b
Новосибирская 67	Яровая белозерная	100 ± 0	99 ± 1	99 ± 1	96 ± 4 ^b	64 ± 2 ^a
Chinese Spring	Яровая краснозерная	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0 ^b	86 ± 2 ^b
Мироновская 808	Озимая краснозерная	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	78 ± 7 ^a	52 ± 13 ^a

^{a, b} Разными буквами отмечены статистически значимые различия между линиями при $p < 0.05$ (U-тест).

Таблица 3. Энергия прорастания через 3 дня (72 ч) и всхожесть зерновок пшеницы через 7 дней после искусственного старения

Номер	Сорта и линии	Температура обработки, °С	Энергия прорастания (%) через 3 дня	Всхожесть (%) через 7 дней	Индекс прорастания, %*
1	C29/S29	20	94 ± 6	100 ± 0	
		48	41 ± 9 ^a	81 ± 8 ^a	80.7
4	<i>C29Pp3Pp-D1^P</i>	20	100 ± 0	99 ± 1	
		48	69 ± 5 ^b	96 ± 3 ^b	97.6
7	<i>C29Pp3Pp-D1^{PF}</i>	20	96 ± 1	98 ± 1	
		48	70 ± 13 ^b	96 ± 2 ^b	98.3

* Процентное содержание жизнеспособных семян после 48 °С в сравнении с контрольными при 20 °С.

^{a, b} Разными буквами отмечены статистически значимые различия между линиями при $p < 0.05$ (U-тест).

менами тепличной вегетации. Так, энергия прорастания семян сорта Саратовская 29 составила всего около 20 %, а количество жизнеспособных семян – 35 %, тогда как у зерен линии *C29Pp3Pp-D1^P* с антоциановым перикарпом – 36 и 42 % соответственно. Таким образом, несмотря на порчу семян почвенными микроорганизмами, полученные результаты свидетельствуют об устойчивости пигментированных антоцианами зерновок мягкой пшеницы к повышенной температуре и высокой влажности воздуха.

Прорастание семян после длительного естественного хранения

Все испытанные образцы пшеницы дружно проросли после двух лет хранения при 20 ± 2 °C в благоприятных условиях в сухом проветриваемом помещении. Всхожесть семян составила 100 % (табл. 4 и 5).

Энергия прорастания семян снизилась до 30–39 % через 6 лет и до 21–28 % после 9 лет длительного естественного хранения (см. табл. 4). При сравнении энергии прорастания почти изогенных линий с родительским сортом Саратовская 29 семена линии *C29Pp3Pp^{PF}* (№ 5) с рекомбинантным участком ДНК в хромосоме 2A от сорта Purple Feed показали достоверное снижение по данному показателю через 6 лет, 7 лет и 8 лет и 10 мес. хранения (см. табл. 4). У семян линии *C29Pp-D1^P* (№ 3), несущих рекомбинантный фрагмент ДНК от сорта Purple в хромосоме 7D, энергия прорастания была достоверно самой высокой через 7 лет хранения. Через 8 лет и 10 мес. энергия прораста-

ния семян линии *C29Pp-D1^{PF}* (№ 6) с рекомбинантным фрагментом в хромосоме 7D достоверно превышала энергию прорастания семян сорта Саратовская 29. Через 9 лет и 2 мес. достоверных отличий между линиями по энергии прорастания зерен обнаружено не было.

Самое низкое значение всхожести через 7 дней после посева зерновок пшеницы, хранившихся 8 лет и 10 мес., обнаружено у линии *C29Pp3Pp^{PF}* (№ 5), а у хранившихся 9 лет и 2 мес. – у линии *C29Pp3P^P* (№ 2) с рекомбинантными участками ДНК в хромосомах 2A от сортов Purple Feed и Purple соответственно (см. табл. 5).

Всхожесть фиолетовых зерновок линий *C29Pp3Pp-D1^P* (№ 4) и *C29Pp3Pp-D1^{PF}* (№ 7), несущих рекомбинантные фрагменты от сортов Purple и Purple Feed одновременно в хромосомах 2A и 7D, была достоверно снижена через 8 лет и 10 мес. хранения (45 и 44 % против 52 % у сорта Саратовская 29). И далее, спустя четыре месяца, после 9 лет и 2 мес. хранения, жизнеспособность семян уменьшилась и достоверно не отличалась от сорта Саратовская 29 (см. табл. 5).

Линия *C29Pp-D1^P* (№ 3) с рекомбинантным фрагментом только в хромосоме 7D от сорта Purple имела самую высокую всхожесть через 7 дней после посева зерновок, хранившихся 6 и 7 лет при температуре 20 ± 2 °C, сравнимую с контрольными зёрнами, хранившимися 2 года (всхожесть 95–100 %). Через 8 лет и 10 мес. хранения жизнеспособность зерновок линии *C29Pp-D1^P* (№ 3) и линии *C29Pp-D1^{PF}* (№ 6) с рекомбинантными фрагментами ДНК

Таблица 4. Энергия прорастания (%) зерновок пшеницы, хранившихся в течение 2 и 6–9 лет при 20 ± 2 °C, через 3 дня после посева

Номер	Линия	2 года	6 лет	7 лет	8 лет	8 лет 10 мес.	9 лет 2 мес.
1	<i>C29/S29</i>	100 ± 1	39 ± 3	40 ± 2	25 ± 4	28 ± 5	28 ± 7
2	<i>C29Pp3^P</i>	100 ± 0	37 ± 1	35 ± 5	30 ± 1	32 ± 4	26 ± 6
3	<i>C29Pp-D1^P</i>	100 ± 0	35 ± 6	62 ± 4*	28 ± 5	29 ± 3	22 ± 4
4	<i>C29Pp3Pp-D1^P</i>	100 ± 1	39 ± 2	40 ± 4	34 ± 2	25 ± 6	23 ± 2
5	<i>C29Pp3Pp^{PF}</i>	100 ± 0	30 ± 5*	32 ± 3*	31 ± 2	21 ± 1*	28 ± 2
6	<i>C29Pp-D1^{PF}</i>	100 ± 0	36 ± 3	34 ± 6	33 ± 2	37 ± 4*	27 ± 5
7	<i>C29Pp3Pp-D1^{PF}</i>	100 ± 0	32 ± 8	39 ± 3	30 ± 3	29 ± 2	21 ± 7

* Различия достоверны по сравнению с контролем, $p < 0.05$ (U-тест).

Таблица 5. Жизнеспособность (%) зерновок пшеницы, хранившихся в течение 2 и 6–9 лет при 20 ± 2 °C, через 7 дней после посева

Номер	Линия	2 года	6 лет	7 лет	8 лет	8 лет 10 мес.	9 лет 2 мес.
1	<i>C29/S29</i>	100 ± 1	93 ± 2	79 ± 5	52 ± 1	52 ± 2	46 ± 7
2	<i>C29Pp3^P</i>	100 ± 0	89 ± 3	77 ± 4	66 ± 3*	55 ± 4	40 ± 6
3	<i>C29Pp-D1^P</i>	100 ± 0	95 ± 3	95 ± 5*	57 ± 7	58 ± 3*	43 ± 3
4	<i>C29Pp3Pp-D1^P</i>	100 ± 1	83 ± 4*	76 ± 4	55 ± 3	45 ± 2*	42 ± 2
5	<i>C29Pp3Pp^{PF}</i>	100 ± 0	85 ± 3*	66 ± 6*	57 ± 5	38 ± 1*	46 ± 6
6	<i>C29Pp-D1^{PF}</i>	100 ± 0	89 ± 4	74 ± 8	54 ± 6	58 ± 4*	48 ± 9
7	<i>C29Pp3Pp-D1^{PF}</i>	100 ± 0	86 ± 6*	83 ± 3	46 ± 2*	44 ± 1*	41 ± 1

* Различия достоверны по сравнению с контролем, $p < 0.05$ (U-тест).

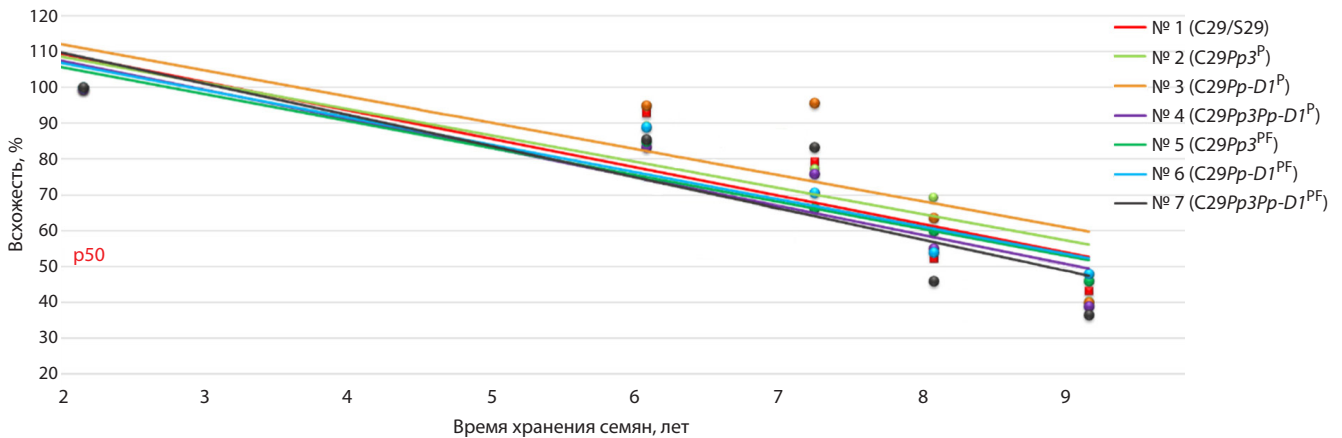


Рис. 3. Изменчивость всхожести зерновок после многолетнего хранения семян при $20 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$.

Таблица 6. Результаты регрессионного анализа изменчивости всхожести зерновок изогенных линий пшеницы во времени

Номер	Линия	Уравнение линейной регрессии ($y = b_0 + b_1 \cdot x$)	R	p
1	C29/S29	$y = 125.415 - 7.944x$	-0.876	0.0000
2	C29Pp3 ^P	$y = 124.454 - 7.677x$	-0.888	0.0000
3	C29Pp-D1 ^P	$y = 127.712 - 7.594x$	-0.769	0.0002
4	C29Pp3Pp-D1 ^P	$y = 125.342 - 8.527x$	-0.919	0.0000
5	C29Pp3 ^{PF}	$y = 125.718 - 8.806x$	-0.932	0.0000
6	C29Pp-D1 ^{PF}	$y = 121.357 - 7.302x$	-0.903	0.0000
7	C29Pp3Pp-D1 ^{PF}	$y = 126.469 - 8.674x$	-0.878	0.0000

в хромосомах 7D была достоверно выше родительского сорта Саратовская 29 (58 против 52 %).

После длительного хранения при $20 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$, через 9 лет и 2 мес., средние значения всхожести зерновок у всех линий были ниже 50 %, достоверно не отличаясь от сорта Саратовская 29 (рис. 3, значение $p50$). Зависимость всхожести семян от времени их хранения хорошо описывается линейной регрессионной моделью (коэффициенты детерминации R^2 значимы и варьируют у разных линий от 0.592 до 0.844). Для всех линий наблюдались отрицательные зависимости от времени хранения зерновок (табл. 6, см. рис. 3).

Самые высокие коэффициенты детерминации R^2 зависимости всхожести изучаемых образцов семян по отношению ко времени хранения были у линий № 4–6 (см. табл. 6). Самый низкий коэффициент детерминации $R^2 = 0.592$ и слабую зависимость всхожести семян от времени хранения показала линия № 3, имеющая единичный рекомбинационный участок в коротком плече у пары хромосом 7D. Низкие значения детерминации указывают на невысокое качество построенной модели, что подразумевает влияние на всхожесть семян, помимо срока хранения, дополнительных факторов, которые не были учтены при построении регрессионной модели.

При анализе уравнений линейной регрессии установлено, что стартовая всхожесть зерновок (коэффициент b_0) была схожа. Коэффициент b_1 характеризует угол наклона линии регрессии: чем выше значение b_1 , тем чувстви-

тельнее линии к хранению зерновок. Наибольшие значения b_1 были выявлены для линий № 7 C29Pp3Pp-D1^{PF} ($b_1 = -8.674$), № 4 C29Pp3Pp-D1^P ($b_1 = -8.527$) и № 5 C29Pp3^{PF} ($b_1 = -8.806$), несущих рекомбинантные участки в хромосоме 2A от доноров. Тогда как наименьшие значения b_1 получены для линий № 6 C29Pp-D1^{PF} ($b_1 = -7.302$) и № 3 C29Pp-D1^P ($b_1 = -7.594$), характеризующихся наличием рекомбинантного участка от донора в хромосоме 7D.

В отличие от положительного влияния антоцианов на всхожесть семян после ускоренного индуцированного старения, их роль в поддержании жизнеспособности семян мягкой пшеницы в условиях длительного хранения не выявлена, однако установлено влияние рекомбинантного фрагмента на хромосоме 7D.

Обсуждение

Индукцированное старение семян и жизнеспособность

Общепризнано, что на фоне высокой влажности при повышении температуры хранения происходит ускоренная потеря жизнеспособности семян. Метод «ускоренного индуцированного старения» (АА-тест) как процедура контролируемой порчи имитирует естественное старение семян и позволяет оценить их жизнеспособность.

Нами протестированы хранившиеся менее года после сбора урожая зерновки нескольких яровых и озимых сортов мягкой пшеницы, выращенных в однотипных контролируемых условиях в теплице, и подобраны условия для

AA-теста: предпосевная температура обработки семян 48 °C с повышенной влажностью воздуха в течение 72 ч. Только после повышения температуры предобработки до 48 °C всхожесть семян краснозерных сортов яровой пшеницы Саратовская 29 и Chinese Spring снизилась до 87 и 86 % соответственно. Всхожесть сибирского безозерного сорта Новосибирская 67 снизилась до 64 %. Интересно, что самые низкие показатели всхожести были у зерновок озимого сорта Мироновская 808 – всего 52 %.

По литературным данным, в Институте генетики растений и исследований сельскохозяйственных культур (IPK Gatersleben, Германия) коллекцию зерновок пшеницы озимых сортов и синтетиков подвергали искусственному старению, выдерживая в течение 72 ч при 43 °C и высокой (около 100 %) влажности (Landjeva et al., 2010; Rehman Arif et al., 2012; Agacka-Mołdoch et al., 2016; Arif et al., 2017). При изучении засухоустойчивой краснозерной диплоидной популяции пшеницы в Сельскохозяйственном университете Шаньси (Китай) зерновки выдерживали в течение 0, 24, 36, 48, 60 и 72 ч при более высокой температуре, 48 °C (Shi et al., 2020). Данный факт свидетельствует о том, что семена яровых краснозерных сортов пшеницы более устойчивы к непродолжительному повышению температуры и влажности.

Ранее было показано, что на длинном плече хромосомы 3A мутация функционального аллеля гена *R1* (*Tamyb10-A1*), представляющего собой транскрипционный фактор типа R2R3-MYB и регулирующего путь биосинтеза флавоноидов, привела к появлению белой оболочки зерна пшеницы, а также к уменьшению периода покоя (Mares, Hími, 2021). Авторы предположили, что красный цвет семенной оболочки сам по себе не является абсолютно необходимым для покоя. Он имел кумулятивный эффект в сочетании с другими локусами, контролирующими покой, не связанными с цветом зерна, поскольку выход из состояния покоя происходил раньше у изолированных эмбрионов по сравнению с интактными, покрытыми оболочками зерновками. Таким образом, функциональный аллель *R1* усиливал экспрессию генов, контролирующих состояние покоя в зерновках пшеницы, и удлинял время выхода из спячки (Mares, Hími, 2021).

Даже несмотря на то, что краснозерный сорт пшеницы Саратовская 29 более жизнеспособен в сравнении с белозерными и озимыми сортами, у почти изогенных линий с антоциановой окраской зерна, выведенных на его основе, индекс прорастания был достоверно выше на ~20 % после искусственного старения относительно исходного сорта (см. табл. 3). Повышенная жизнеспособность зерновок изогенных линий с антоциановым перикарпом в сравнении с краснозерным родительским сортом наблюдалась и у семян полевого урожая, зараженных патогенами и грибами. Такое действие антоцианов можно объяснить их антиоксидантными свойствами и участием в процессе нейтрализации АФК, образующихся в условиях повышения температуры и влажности. Таким образом, установлена положительная связь между содержанием антоциановых пигментов в околоплоднике яровой мягкой пшеницы Саратовская 29 и сохранением жизнеспособности семян, находящихся в состоянии покоя, при непродолжительном повышении температуры окружающей среды до 48 °C и

100 % влажности воздуха. Это можно объяснить действием генов *Pp*, которые запускают биосинтез антоцианов, обладающих антиоксидантным потенциалом, в перикарпе зерновки пшеницы после непродолжительного повышения температуры и влажности.

На хромосомах 2AL и 7DS, где были картированы гены транскрипционных факторов, регулирующих биосинтез антоцианов в перикарпе зерновок, также были картированы локусы количественных признаков (QTL), контролирующие долговечность семян пшеницы после индуцированного старения. Среди них, например, QTL, локализованные в районах 2AS5-0.78–1.00 и 2AL1-0.85–1.00, содержащих гены, влияющие на выработку и уровень ферментов, таких как НАДН-дегидрогеназа, пируват-декарбоксилаза, пероксидаза, супероксиддисмутаза. Гены *Per2* (пероксидаза 2), *Sod* (супероксиддисмутаза), *Wip* (гены ингибиторов протеаз) и другие гены защитной реакции растений были описаны на всех трех гомеологичных хромосомах группы 2 (Li et al., 1999). Ген *Cbp2* (белок, связывающий хитиназу) картирован на длинном плече хромосомы 2A (Arif et al., 2017). QTL, контролирующий долговечность семян, также картирован на хромосоме 2Н ячменя, где был локализован маркер bPb6688_2Н, гомологичный гену, кодирующему рибонуклеазу Н (RNaseH), которая участвует в репликации, репарации, рекомбинации и транскрипции ДНК при восстановлении повреждений во время созревания и хранения семян (Nagel et al., 2015). Пять DArT-маркеров, сцепленных с QTL, контролирующими долговечность семян пшеницы, были картированы в хромосомах группы 7 в районах 7AS1-0.89–1.00, 7BS1-27-1.00, 7BL10-0.78–1.00 и 7DS4-0.61–1.00 (Arif et al., 2017). На ортологичной хромосоме ячменя 7Н картирован маркер bPb5747_7Н, соответствующий гену, кодирующему белок из суперсемейства ERF/APETALA2, которое участвует в реакции растений на многочисленные стрессы, приводящие к повышению антиоксидантной активности (Nagel et al., 2015).

Естественное хранение семян и жизнеспособность

Среди сельскохозяйственных культур мягкую пшеницу относят к группе мезобиотиков, семена которых при благоприятных условиях хранения не теряют всхожесть в течение 5–10 лет (Гурьева и др., 2021). Считается, что долговечность зерновок пшеницы составляет до 14 лет в условиях окружающей среды (20 °C, относительная влажность до 50 %) со значением r_{50} (период жизнеспособности 50 %) около семи лет (Nagel, Börner, 2010).

В нашей работе после естественного старения при хранении семян в сухом проветриваемом помещении при 20±2 °C после двух, шести, семи, восьми и девяти лет хранения потеря 50 % жизнеспособности зерновок почти изогенных линий, созданных на основе сорта Саратовская 29, наблюдалась после девяти лет хранения (см. табл. 5), что соответствует биологической долговечности семян до 18 лет хранения.

В настоящем эксперименте после двух лет хранения при 20 °C все испытанные образцы пшеницы были здоровыми, имели всхожесть и энергию прорастания 100 % (см. табл. 4 и 5). И только после шести лет хранения всхожесть трех линий, *C29Pp3Pp-D1^P*, *C29Pp3^{PF}*, *C29Pp3Pp-D1^{PF}*

(№ 4, 5, 7), была достоверно снижена в сравнении с сортом Саратовская 29 (№ 1 = 93 %), составляя 83, 85 и 86 % соответственно. По ГОСТ Р 52325-2005, всхожесть семенного материала в качестве репродукции для производства товарной продукции должна быть не менее 87 % (Гурьева и др., 2021). Надо отметить, что сам сорт Саратовская 29 принадлежит к краснозерной разновидности пшеницы и содержит полимерные проантоцианидины, которые синтезируются в семенной оболочке, усиливая покой и долговечность семян (Mares, Himi, 2021). Можно предположить, что в линиях с рекомбинантными участками в хромосомы 2AL от сортов-доноров Purple и Purple Feed был привнесён аллель локуса *Q.Lng.ipk.2A.1(SW)* (Arif et al., 2022), негативно влияющий на продолжительность жизни семян.

По правилам тестирования семян Международной ассоциации тестирования семян (ISTA), снижение скорости прорастания после старения, измеряемое по среднему времени прорастания (средняя задержка до появления корешков), интерпретируется как время, необходимое для метаболического восстановления вредных последствий старения, прежде чем прорастание сможет начаться (Powell, Matthews, 2012). После семи лет хранения самыми дружными по скорости прорастания и всхожести оказались семена линии *C29Pp-D1^P* (№ 3) с рекомбинантным участком в хромосоме 7D от сорта-донора Purple (см. табл. 5). Значимо повышенную скорость прорастания после девяти лет хранения показали проростки из зерен изогенных линий *C29Pp-D1^P* и *C29Pp-D1^{PF}* (№ 3 и 6) с рекомбинантными участками в хромосоме 7D от сортов Purple и Purple Feed соответственно. По результатам регрессионного анализа наименьшие значения коэффициента угла наклона b_1 , а следовательно, и влияние времени хранения на всхожесть зерновок были выявлены для изогенных линий *C29Pp-D1^P* и *C29Pp-D1^{PF}* (№ 3 и 6), несущих рекомбинантный участок от сорта-донора в хромосоме 7D (см. табл. 6, рис. 3). По-видимому, это связано с генами положительной регуляции долговечности семян, находящимися в данных участках хромосомы 7DS.

Как показано ранее при изучении признаков долговечности семян у рекомбинантных линий пшеницы *Aegilops tauschii*, область хромосомы 7DS, где локализуется микросателлитный маркер *Xgwm1002*, сцепленный с геном *Pp-D1*, содержит локусы, контролирующие развитие нормальных проростков (Landjeva et al., 2010). В то же время самая низкая всхожесть и высокая чувствительность к хранению зерновок наблюдались у линий с одиночными рекомбинантными участками в хромосоме 2AL, что, как мы предполагаем, связано с отрицательной регуляцией аллеля локуса *Q.Lng.ipk.2A.1(SW)*, находящегося в данном участке хромосомы 2AL (Arif et al., 2022).

Всхожесть семян линий *C29Pp3Pp-D1^P* и *C29Pp3Pp-D1^{PF}* (№ 4 и 7) с антоциановыми пигментами в околоплоднике, несущими рекомбинантные фрагменты от сортов Purple Feed и Purple в хромосомах 2A и 7D, была тоже снижена. Полученные результаты показали нейтральную, а в некоторых случаях даже отрицательную роль антоцианов в перикарпе зерновок при длительном хранении, что отличается от результатов тестирования зерновок после искусственного индуцированного старения с повышенной

температурой (48 °C) и 100 % влажностью в течение 72 ч, где при общем падении всхожести семян индекс прорастания окрашенных антоцианами зерен был на 20 % выше, чем у линий без антоцианового пигмента (см. табл. 3).

Результаты лабораторных методов искусственного ускоренного старения, используемых для оценки долговечности в условиях хранения семян, подвергаются сомнению из-за неэффективной имитации фактического старения семян и, как следствие, значительных отличий в результатах (Schwember, Bradford, 2010; Roach et al., 2018; Giannela et al., 2022). Например, была показана низкая корреляция между жизнеспособностью зерна после естественного хранения при 0 °C и относительной влажности 10 % в течение 12–14 лет и жизнеспособностью зерна, подвергнутого искусственному старению (Agacka-Moldoch et al., 2016). При этом были выявлены локусы *Q.Lng.ipk-4A* и *-7B*, контролирующие жизнеспособность семян в условиях длительного хранения и искусственного старения (Agacka-Moldoch et al., 2016). У ячменя в хромосомах 2H, 5H и 7H были картированы QTL, отвечающие за долговечность зерна (Nagel et al., 2015). Предполагается, что один из выявленных локусов контролирует биосинтез глутатиона, наиболее древнего окислительно-восстановительного буфера (Швачко, Хлесткина, 2020).

Считается, что снижение активности антиоксидантных систем способствует накоплению АФК, что является основной причиной повреждения ДНК и ухудшения состояния клеток в состарившихся семенах и, как следствие, их пониженной всхожести (Швачко, Хлесткина, 2020). В созревших сухих зерновках с пониженным содержанием влаги при длительном хранении идет постепенное накопление мутаций нуклеотидов и деградация макромолекул в результате внутренних деструктивных эндогенных процессов, связанных с замедлением механизмов репарации и развитием интоксикации побочными продуктами метаболизма. Об этом свидетельствует накопление в семенах большого количества АФК, окисленных липидов и альдегидов (Wiebach et al., 2020; Zhang et al., 2022). Потеря жизнеспособности семян проявляется в снижении скорости и равномерности прорастания семян из-за длительного периода предростовой репарации ДНК, начинающейся на самых ранних стадиях пропитки семян водой, до начала роста и выхода корешка через семенную оболочку. Процесс активации клеточного цикла регулируется протеинкиназами контрольных точек (check points), которые замедляют прорастание при наличии повреждений ДНК, что в итоге влияет на достоверность передачи генетической информации и качество семян (Waterworth et al., 2016; Considine, Foyer, 2021). Необходимость длительного восстановления накопленных повреждений лежит в основе задержки прорастания и в конечном счете приводит к истощению и гибели семян (Waterworth et al., 2019).

Удаление избыточного количества АФК играет ключевую роль в регуляции долговечности семян (Zhou W. et al., 2020). Однако водорастворимые антоцианы в перикарпе зерновок присутствуют в высушенном состоянии и начинают работать только во время увлажнения и набухания семян. По-видимому, защита сухих семян с высокой вязкостью цитоплазмы и низкой клеточной подвижностью во время длительного хранения осуществляется другими

антиоксидантными системами, вероятно глутатионом, который был выявлен в высокой концентрации в сухих семенах, либо жирорастворимыми антиоксидантами. В том числе такую функцию можно предположить для антоцианов, находящихся в алейроновом слое зерновки, содержащем большое количество жирных кислот. Возможно, выявленное положительное влияние локуса на хромосоме 7DS на жизнеспособность семян пшеницы после длительного хранения связано именно с действием этого мощного антиоксиданта, а не антоцианов, синтез которых контролируется двумя локусами, один из которых (на хромосоме 2A) оказывает отрицательное влияние на жизнеспособность после длительного старения.

Заключение

В результате проведенного исследования впервые показано, что антоцианы, накапливающиеся в зерновках пшеницы, оказывают положительное влияние на всхожесть семян после искусственного старения, индуцированного повышенной до 48 °C температурой в течение 72 ч. В условиях длительного естественного хранения положительного влияния антоцианов на поддержание жизнеспособности семян выявлено не было. Однако наличие рекомбинантного участка на хромосоме 7D повышало жизнеспособность семян после длительного хранения, что может быть связано с наличием в этой хромосоме сцепленных с геном *Pp-D1* локусов, контролирующих долговечность семян пшеницы.

Список литературы / References

Гурьева К.Б., Белецкий С.Л., Хаба Н.А. Исследования посевных качеств зерна пшеницы при длительном хранении. В: Инновационные технологии производства и хранения материальных ценностей для государственных нужд. М.: Галлея-Принт, 2021; 28-36
[Guryeva K.B., Beletskiy S.L., Khaba N.A. Studies of wheat grain sowing qualities during long-term storage. In: Innovative Technologies for the Production and Storage of Material Assets for National Needs. Moscow: Galleya-Print Publ., 2021;28-36 (in Russian)]

Швачко Н.А., Хлесткина Е.К. Молекулярно-генетические основы устойчивости семян к окислительному стрессу при хранении. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2020;24(5):451-458. DOI 10.18699/VJ20.47-0
[Shvachko N.A., Khlestkina E.K. Molecular genetic bases of seed resistance to oxidative stress during storage. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2020;24(5):451-458. DOI 10.18699/VJ20.47-0]

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.Yu., 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)]

Agacka-Moldoch M., Arif M.A.R., Lohwasser U., Doroszewska T., Qualset C.O., Börner A. The inheritance of wheat grain longevity: a comparison between induced and natural ageing. *J. Appl. Genet.* 2016;57(4):477-481. DOI 10.1007/s13353-016-0348-3

Arbuzova V.S., Maystrenko O.I., Popova O.M. Development of near-isogenic lines of the common wheat cultivar 'Saratovskaya 29'. *Cereal Res. Commun.* 1998;26(1):39-46. DOI 10.1007/bf03543466

Arif M.A.R., Nagel M., Lohwasser U., Börner A. Genetic architecture of seed longevity in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *J. Biosci.* 2017;42(1):81-89. DOI 10.1007/s12038-016-9661-6

Arif M.A.R., Afzal I., Börner A. Genetic aspects and molecular causes of seed longevity in plants – a review. *Plants*. 2022;11(5):598. DOI 10.3390/plants11050598

Chen X., Yin G., Börner A., Xin X., He J., Nagel M., Liu X., Lu X. Comparative physiology and proteomics of two wheat genotypes differing in seed storage tolerance. *Plant Physiol. Biochem.* 2018; 130:455-463. DOI 10.1016/j.plaphy.2018.07.022

Considine M.J., Foyer C.H. Stress effects on the reactive oxygen species-dependent regulation of plant growth and development. *J. Exp. Bot.* 2021;72(16):5795-5806. DOI 10.1093/jxb/erab265

Corso M., Perreau F., Mouille G., Lepiniec L. Specialized phenolic compounds in seeds: structures, functions, and regulations. *Plant Sci.* 2020;296:110471. DOI 10.1016/j.plantsci.2020.110471

Debeaujon I., Peeters A.J., Léon-Kloosterziel K.M., Koornneef M. The *TRANSPARENT TESTA12* gene of Arabidopsis encodes a multidrug secondary transporter-like protein required for flavonoid sequestration in vacuoles of the seed coat endothelium. *Plant Cell*. 2001;13(4):853-871. DOI 10.1105/tpc.13.4.853

Dogra V., Kim C. Singlet oxygen metabolism: from genesis to signaling. *Front. Plant Sci.* 2020;10:1640. DOI 10.3389/fpls.2019.01640

Dumanović J., Nepovimova E., Natić M., Kuća K., Jačević V. The significance of reactive oxygen species and antioxidant defense system in plants: a concise overview. *Front. Plant Sci.* 2021;11:552969. DOI 10.3389/fpls.2020.552969

Garg M., Kaur S., Sharma A., Kumari A., Tiwari V., Sharma S., Kapoor P., Sheoran B., Goyal A., Krishania M. Rising demand for healthy foods-anthocyanin biofortified colored wheat is a new research trend. *Front. Nutr.* 2022;9:878221. DOI 10.3389/fnut.2022.878221

Gianella M., Balestrazzi A., Ravasio A., Mondoni A., Börner A., Guzzon F. Comparative seed longevity under genebank storage and artificial ageing: a case study in heteromorphic wheat wild relatives. *Plant Biol.* 2022;24(5):836-845. DOI 10.1111/plb.13421

Gordeeva E.I., Shoeva O.Y., Khlestkina E.K. Marker-assisted development of bread wheat near-isogenic lines carrying various combinations of purple pericarp (*Pp*) alleles. *Euphytica*. 2015;203(2):469-476. DOI 10.1007/s10681-014-1317-8

Hay F.R., Valdez R., Lee J.S., Sta. Cruz P.C. Seed longevity phenotyping: recommendations on research methodology. *J. Exp. Bot.* 2019; 70(2):425-434. DOI 10.1093/jxb/ery358

International Rules for Seed Testing. Switzerland: The International Seed Testing Association (ISTA), 2004

Kaur S., Tiwari V., Kumari A., Chaudhary E., Sharma A., Ali U., Garg M. Protective and defensive role of anthocyanins under plant abiotic and biotic stresses: an emerging application in sustainable agriculture. *J. Biotechnol.* 2023;361:12-29. DOI 10.1016/j.jbiotec.2022.11.009

Kohyama N., Chono M., Nakagawa H., Matsuo Y., Ono H., Matsunaka H. Flavonoid compounds related to seed coat color of wheat. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2017;81(11):2112-2118. DOI 10.1080/09168451.2017.1373589

Kong L., Wang F., Si J., Feng B., Li S. Water-soluble phenolic compounds in the coat control germination and peroxidase reactivation in *Triticum aestivum* seeds. *Plant Growth Regul.* 2008;56:275-283. DOI 10.1007/s10725-008-9307-2

Kumar A., Prasad A., Pospíšil P. Formation of α -tocopherol hydroperoxide and α -tocopheroxyl radical: relevance for photooxidative stress in Arabidopsis. *Sci. Rep.* 2020;10(1):19646. DOI 10.1038/s41598-020-75634-0

Kurek K., Plitta-Michalak B., Ratajczak E. Reactive oxygen species as potential drivers of the seed aging process. *Plants*. 2019;8(6):174. DOI 10.3390/plants8060174

Landjeva S., Lohwasser U., Börner A. Genetic mapping within the wheat D genome reveals QTL for germination, seed vigour and longevity, and early seedling growth. *Euphytica*. 2010;171:129-143. DOI 10.1007/s10681-009-0016-3

- Li W., Faris J., Chittoor J., Leach J., Hulbert S., Liu D., Chen P., Gill B. Genomic mapping of defense response genes in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 1999;98:226-233. DOI 10.1007/s001220051062
- Li W., Niu Y., Zheng Y., Wang Z. Advances in the understanding of reactive oxygen species-dependent regulation on seed dormancy, germination, and deterioration in crops. *Front. Plant Sci.* 2022;13:826809. DOI 10.3389/fpls.2022.826809
- Liu J., Zhou H., Song L., Yang Z., Qiu M., Wang J., Shi S. Anthocyanins: promising natural products with diverse pharmacological activities. *Molecules.* 2021;26(13):3807. DOI 10.3390/molecules26133807
- Longo C., Holness S., De Angelis V., Lepri A., Occhigrossi S., Ruta V., Vittorioso P. From the outside to the inside: new insights on the main factors that guide seed dormancy and germination. *Genes.* 2020;12(1):52. DOI 10.3390/genes12010052
- Loskutov I.G., Khlestkina E.K. Wheat, barley, and oat breeding for health benefit components in grain. *Plants.* 2021;10(1):86. DOI 10.3390/plants10010086
- Mares D., Himi E. The role of *TaMYB10-A1* of wheat (*Triticum aestivum* L.) in determining grain coat colour and dormancy phenotype. *Euphytica.* 2021;217(5):89. DOI 10.1007/s10681-021-02826-8
- Nagel M., Börner A. The longevity of crop seeds stored under ambient conditions. *Seed Sci. Res.* 2010;20(1):1-12. DOI 10.1017/s0960258509990213
- Nagel M., Kranner I., Neumann K., Rolletschek H., Seal C.E., Colville L., Fernández-Marín B.E., Börner A. Genome-wide association mapping and biochemical markers reveal that seed ageing and longevity are intricately affected by genetic background and developmental and environmental conditions in barley. *Plant Cell Environ.* 2015;38(6):1011-1022. DOI 10.1111/pce.12474
- Patra S., Makhil P., Jaryal S., Nilesh M., Kaki V.R. Anthocyanins: plant-based flavonoid pigments with diverse biological activities. *Int. J. Plant Based Pharm.* 2022;2(1):118-127. DOI 10.62313/ijpbp.2022.22
- Pourcel L., Routaboul J.M., Cheynier V., Lepiniec L., Debeaujon I. Flavonoid oxidation in plants: from biochemical properties to physiological functions. *Trends Plant Sci.* 2007;12(1):29-36. DOI 10.1016/j.tplants.2006.11.006
- Powell A., Matthews S. Seed aging/repair hypothesis leads to new testing methods. *Seed Technol.* 2012;34(1):15-25
- Rathod D.R., Kumar A., Lal S.K., Talukdar A. Seed coat permeability studies in wild and cultivated species of soybean. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* 2017;6(7):2358-2363. DOI 10.20546/ijcmas.2017.607.279
- Rehman Arif M.A., Nagel M., Neumann K., Kobiljski B., Lohwasser U., Börner A. Genetic studies of seed longevity in hexaploid wheat using segregation and association mapping approaches. *Euphytica.* 2012;186:1-13. DOI 10.1007/s10681-011-0471-5
- Roach T., Nagel M., Börner A., Eberle C., Kranner I. Changes in tocopherols and glutathione reveal differences in the mechanisms of seed ageing under seedbank conditions and controlled deterioration in barley. *Environ. Exp. Bot.* 2018;156:8-15. DOI 10.1016/j.envexpbot.2018.08.027
- Sano N., Rajjou L., North H.M., Debeaujon I., Marion-Poll A., Seo M. Staying alive: molecular aspects of seed longevity. *Plant Cell Physiol.* 2016;57(4):660-674. DOI 10.1093/pcp/pcv186
- Schwember A.R., Bradford K.J. Quantitative trait loci associated with longevity of lettuce seeds under conventional and controlled deterioration storage conditions. *J. Exp. Bot.* 2010;61(15):4423-4436. DOI 10.1093/jxb/erq248
- Shah F.A., Ni J., Chen J., Wang Q., Liu W., Chen X., Tang C., Fu S., Wu L. Proanthocyanidins in seed coat tegmen and endospermic cap inhibit seed germination in *Sapum sebiferum*. *PeerJ.* 2018;6:e4690. DOI 10.7717/peerj.4690
- Shen N., Wang T., Gan Q., Liu S., Wang L., Jin B. Plant flavonoids: classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity. *Food Chem.* 2022;383:132531. DOI 10.1016/j.foodchem.2022.132531
- Shi H., Guan W., Shi Y., Wang S., Fan H., Yang J., Chen W., Zhang W., Sun D., Jing R. QTL mapping and candidate gene analysis of seed vigor-related traits during artificial aging in wheat (*Triticum aestivum*). *Sci. Rep.* 2020;10(1):22060. DOI 10.1038/s41598-020-75778-z
- Stegner M., Wagner J., Roach T. Antioxidant depletion during seed storage under ambient conditions. *Seed Sci. Res.* 2022;32(3):150-156. DOI 10.1017/s0960258522000101
- Tereshchenko O.Y., Gordeeva E.I., Arbusova V.S., Börner A., Khlestkina E. The D genome carries a gene determining purple grain colour in wheat. *Cereal Res. Commun.* 2012;40(3):334-341. DOI 10.1556/CRC.40.2012.3.2
- Waterworth W.M., Footitt S., Bray C.M., Finch-Savage W.E., West C.E. DNA damage checkpoint kinase ATM regulates germination and maintains genome stability in seeds. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2016;113(34):9647-9652. DOI 10.1073/pnas.1608829113
- Waterworth W.M., Bray C.M., West C.E. Seeds and the art of genome maintenance. *Front. Plant Sci.* 2019;10:706. DOI 10.3389/fpls.2019.00706
- Wiebach J., Nagel M., Börner A., Altmann T., Riewe D. Age-dependent loss of seed viability is associated with increased lipid oxidation and hydrolysis. *Plant Cell Environ.* 2020;43(2):303-314. DOI 10.1111/pce.13651
- Zhang T., Ayed C., Fisk I.D., Pan T., Wang J., Yang N., Sun Q. Evaluation of volatile metabolites as potential markers to predict naturally-aged seed vigour by coupling rapid analytical profiling techniques with chemometrics. *Food Chem.* 2022;367:130760. DOI 10.1016/j.foodchem.2021.130760
- Zhou G., Wu S., Chen D., Wu X., Cai Q. Polyphenols and phytohormones profiling of pre-harvest sprouting resistant and susceptible wheat genotypes. *SN Appl. Sci.* 2023;5:249. DOI 10.1007/s42452-023-05464-y
- Zhou W., Chen F., Luo X., Dai Y., Yang Y., Zheng C., Yang W., Shu K. A matter of life and death: molecular, physiological, and environmental regulation of seed longevity. *Plant Cell Environ.* 2020;43(2):293-302. DOI 10.1111/pce.13666

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 21.12.2023. После доработки 27.03.2024. Принята к публикации 01.04.2024.