

Спорофитный тип восстановления фертильности в ЦМС-индуцирующей цитоплазме сорго типа A_3 и его модификация условиями влагообеспеченности растений

Л.А. Эльконин , В.В. Кожемякин, М.И. Цветова

Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Юго-Востока, Саратов, Россия

 e-mail: lelkonin@gmail.com

A_3 -тип ЦМС сорго – один из самых трудных для восстановления фертильности вследствие низкой частоты встречаемости генов-восстановителей, сложного механизма восстановления фертильности, происходящего при комплементарном взаимодействии двух гаметофитных генов, *Rf3* и *Rf4*, чувствительности их экспрессии к воздушной и почвенной засухе. С целью проверки гипотезы о спорофитном типе восстановления фертильности у созданных нами ЦМС-линий на основе цитоплазмы типа A_3 анализировали расщепление в самоопыленном потомстве фертильных гибридов F_1 , выращенных при разных режимах влагообеспеченности (на делянках с засушливым фоном, с влагообеспеченным фоном, в климатической камере и на опытном поле при естественном режиме влагообеспеченности). Присутствие стерильных растений в семьях F_2 и BC_1 с материнской ЦМС-линией, выращенных при всех испытанных режимах влагообеспеченности, свидетельствует в пользу спорофитного механизма восстановления фертильности. Цитологический анализ фертильных гибридов F_1 выявил значительное число дегенерирующих пыльцевых зерен (ПЗ) с нарушением накопления крахмала, отрывом содержимого ПЗ от клеточной стенки. Предполагается, что у гибридов с изученными ЦМС-линиями гены-восстановители *Rf3* и *Rf4* начинают функционировать уже в тканях спорофита, нормализуя развитие некоторой части ПЗ, несущих рецессивные аллели генов *rf3* и *rf4*, которые участвуют в оплодотворении и дают начало стерильным генотипам в семьях F_2 и в BC_1 . Впервые обнаружено трансгенерационное влияние условий влагообеспеченности растений линии-восстановителя на характер расщепления по мужской фертильности в поколении F_2 : опылитель, выращенный в грядке с дополнительным поливом, давал больше фертильных и меньше стерильных индивидуумов по сравнению с опылителем, выращенным в «засушнике» ($p < 0.01$). При этом характер расщепления изменялся с дигенного на моногенный, свидетельствуя о наследуемом ингибировании экспрессии одного из генов-восстановителей (своеобразный «эффект дедушки»). Показана возможность отбора на устойчивость системы восстановления фертильности в цитоплазме A_3 к функционированию в условиях дефицита влажности воздуха в период цветения, что может способствовать созданию новых восстановителей фертильности этого типа ЦМС. Ключевые слова: *Sorghum bicolor* (L.) Moench; цитоплазматическая мужская стерильность; цитоплазма A_3 ; гены-восстановители фертильности; эпигенетика; трансгенерационное наследование; засуха; дефицит влажности воздуха.

Для цитирования: Эльконин Л.А., Кожемякин В.В., Цветова М.И. Спорофитный тип восстановления фертильности в ЦМС-индуцирующей цитоплазме сорго типа A_3 и его модификация условиями влагообеспеченности растений. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2019;23(4):412-421. DOI 10.18699/VJ19.510

The sporophytic type of fertility restoration in the A_3 CMS-inducing cytoplasm of sorghum and its modification by plant water availability conditions

L.A. Elkonin , V.V. Kozhemyakin, M.I. Tsvetova

Agricultural Research Institute for South-East Region, Saratov, Russia

 e-mail: lelkonin@gmail.com

The A_3 type of CMS in sorghum is one of the most difficult to restore fertility because of the low frequency of fertility-restoring genes among sorghum accessions, the complex mechanism of fertility restoration that occurs with the complementary interaction of two gametophytic genes *Rf3* and *Rf4*, and the sensitivity of their expression to air and soil drought. In order to test the hypothesis of the sporophytic type of fertility restoration in CMS lines with A_3 type cytoplasm developed in our laboratory, we analyzed segregation in the self-pollinated progeny of fertile F_1 hybrids grown under different water availability conditions (in a dryland plot, in plots with additional irrigation, in a growth chamber, and in an experimental field with a natural precipitation regime) and in their backcrosses to the maternal CMS line. The presence of sterile plants in the F_2 and BC_1 families with the maternal CMS line grown in all tested water availability conditions argues for the sporophytic mechanism of fertility restoration. Cytological analysis of fertile F_1 hybrids revealed a significant amount of degenerating pollen grains (PGs) with impaired starch accumulation and detachment of the PG

contents from the cell wall. It is assumed that the expression of the fertility-restoring genes *Rf3* and *Rf4* in the hybrids with studied CMS lines starts already in the sporophyte tissues, normalizing the development of a certain part of the PGs carrying the recessive alleles of these genes (*rf3* and *rf4*), which are involved in fertilization and give rise to sterile genotypes found in F_2 and BC_1 families. For the first time, the transgenerational effect of water availability conditions of growing a fertility-restoring line on male fertility of the F_2 generation was detected: a pollinator grown in a plot with additional irrigation produced more fertile and less sterile individuals compared to the same pollinator grown under a rainfall shelter ($p < 0.01$), and the segregation pattern changed from digenic to monogenic, indicating heritable inhibition of the expression of one of the fertility-restoring genes (kind of "grandfather effect"). The possibility of selection for the stability of the fertility restoration system of the A_3 cytoplasm to functioning under conditions of high vapor pressure deficit during the flowering period was shown. These data may contribute to the creation of effective fertility restoring lines for this type of CMS in sorghum.

Key words: *Sorghum bicolor* (L.) Moench; cytoplasmic male sterility; A_3 cytoplasm; fertility-restoring genes; epigenetics; transgenerational inheritance; drought; vapor pressure deficit.

For citation: Elkonin L.A., Kozhemyakin V.V., Tsvetova M.I. The sporophytic type of fertility restoration in the A_3 CMS-inducing cytoplasm of sorghum and its modification by plant water availability conditions. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektzii* = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2019;23(4):412-421. DOI 10.18699/VJ19.510 (in Russian)

Введение

Развитие генеративной сферы растений – наиболее чувствительная к действию факторов внешней среды стадия онтогенеза. Одна из причин, обуславливающих такую чувствительность, – высокая энергоёмкость процессов мейоза, споро- и гаметогенеза (Dolferus et al., 2013). Как известно, энергетические потребности растения обеспечиваются митохондриом растительной клетки. В то же время митохондрии являются первичными мишенями экологических стрессов, которые нарушают их функционирование и информационный обмен между митохондриальным и ядерным геномами (Atkin, Macherel, 2009; Jacoby et al., 2012; Ng et al., 2014; Liberatore et al., 2016). Этот факт имеет особое значение для гибридов с цитоплазматической мужской стерильностью (ЦМС), возникающих в результате отдаленной гибридизации, у которых нарушен информационный обмен между ядерным и митохондриальным геномами, установленный в процессе эволюции (Touzet, Meuer, 2014), и снижена устойчивость к стрессовым факторам внешней среды (Li et al., 2012).

Среди разных типов стерильных цитоплазм, выявленных у сорго (Reddy et al., 2005), цитоплазма A_3 , источником которой служит линия IS1112C, – одна из самых трудных для восстановления фертильности. Эти трудности обусловлены низкой частотой встречаемости генов-восстановителей фертильности (Worstell et al., 1984; Torres-Cardona et al., 1990; Dahlberg, Madera-Torres, 1997) и чувствительностью их экспрессии к воздушной и почвенной засухе (Kozhemyakin et al., 2017). Генетический анализ восстановления фертильности, выполненный на гибридных комбинациях между ЦМС-линиями с цитоплазмой A_3 селекции Техасской сельскохозяйственной экспериментальной станции (США) и IS1112C, свидетельствовал о функционировании дигенной гаметофитной системы восстановления фертильности, в которой комплементарное взаимодействие двух генов (*Rf3* и *Rf4*) необходимо для формирования жизнеспособной пыльцы (Tang et al., 1998; Pring et al., 1999). Гибриды F_1 с восстановленной мужской фертильностью, гетерозиготные по генам *Rf3* или *Rf4*, дают 25 % фертильной пыльцы, что снижает завязываемость семян и ограничивает практическое использование цитоплазмы A_3 в селекции сорго по сравнению с другими типами стерильных цитоплазм

(A_1 , A_2), обеспечивающими 100 % завязываемость зерна у гибридов F_1 .

Позднее у образцов суданской травы была обнаружена спорофитная система восстановления фертильности ЦМС A_3 (Tang et al., 2007). Эти две системы восстановления фертильности, как известно, имеют принципиальные различия (Chase, Gabay-Laughnan, 2004). При спорофитной системе восстановления фертильности, характерной для большинства типов ЦМС, ген-восстановитель, функционируя в тканях пыльника (спорофита), препятствует дегенерации пыльцевых зерен (ПЗ) после мейоза, характерной для большинства типов ЦМС (Kaul, 1988). В результате в пыльниках гибридов, гетерозиготных по генам восстановителям (*Rf/rf*), формируются ПЗ, несущие ген-восстановитель фертильности (*Rf*), и ПЗ, несущие его рецессивный аллель (*rf*), не обладающий восстановительной способностью. Поэтому в самоопыленном потомстве таких гибридов (F_2), как и в беккроссах с материнской ЦМС-линией (*rf/rf*), присутствуют стерильные растения. При гаметофитной системе восстановления фертильности ген-восстановитель функционирует в мужских гаметофитах – развивающихся ПЗ. В связи с этим в пыльниках гибридов, гетерозиготных по генам-восстановителям (*Rf/rf*), присутствуют как фертильные ПЗ, несущие ген *Rf*, так и стерильные ПЗ, дегенерировавшие в результате отсутствия у них гена-восстановителя. Следовательно, в самоопыленном потомстве таких гибридов, так же, как в их беккроссе с материнской ЦМС-линией, стерильные растения отсутствуют, а присутствуют только растения с полным восстановлением мужской фертильности (*Rf/Rf*) и полустерильные индивидуумы (*Rf/rf*), возникающие за счет передачи аллеля *rf* через яйцеклетки.

Ранее нами было показано, что дефицит влажности воздуха в период цветения отрицательно коррелирует с уровнем фертильности гибридов F_1 в цитоплазме A_3 , тогда как выращивание гибридных популяций в условиях искусственного полива способствовало отбору линий-восстановителей фертильности этого типа ЦМС (Kozhemyakin et al., 2017). Присутствие значительного числа стерильных растений в семьях F_2 формально свидетельствовало в пользу спорофитного типа восстановления мужской фертильности у гибридов F_1 , однако тщательный анализ показал, что стерильные растения цвели в дни с

максимальным дефицитом влажности воздуха, который мог быть причиной их стерильного фенотипа.

Целью экспериментов, изложенных в данной работе, являлась проверка гипотез о спорофитном типе восстановления фертильности ЦМС А₃ под действием генов *Rf3* и *Rf4*, известных как гаметофитные гены-восстановители, а также о трансгенерационном влиянии условий влагообеспеченности на экспрессию мужской фертильности в потомстве гибридов F₁. Кроме того, впервые приводятся данные об эффективности отбора на устойчивое функционирование системы восстановления мужской фертильности в цитоплазме А₃ в условиях воздушной засухи в фазу цветения.

Материалы и методы

В работе исследовали гибридные популяции F₁–F₃, полученные от скрещивания созданных нами ранее ЦМС-линий А₃ КП-70 и А₃ Топаз с линией-восстановителем фертильности А₃-типа ЦМС – КВВ-96. ЦМС-линии были получены с помощью насыщающих беккроссов фертильных линий КП-70 и Топаз на выведенную нами ранее ЦМС-линию А₃ Карликовое белое, для которой донором стерильной цитоплазмы служила линия А₃ Тх398. Эта линия имеет генотип *rf3rf3rf4rf4* (Tang et al., 1998). Линия КВВ-96 была получена нами в результате отбора из гибридной комбинации А₃ Карликовое белое/IS1112С (Kozhemyakin et al., 2017), в которой в качестве донора генов-восстановителей использовалась линия IS1112С. Линия IS1112С имеет А₃ тип цитоплазмы и является донором генов *Rf3* и *Rf4* (Pring et al., 1999; Kulhman et al., 2006).

ЦМС-линии, линии-восстановители и гибридные популяции выращивали на опытном поле Селекционного комплекса ФГБНУ «НИИСХ Юго-Востока», г. Саратов, (51° 32' с. ш., 46° 02' в. д.) в 2016–2018 гг. Посев производили в третьей декаде мая. Растения выращивали в 4-метровых рядах с междурядьем 70 см и расстоянием между растениями 12–15 см с использованием стандартной агротехники, принятой для выращивания зернового сорго.

Агроклиматические условия вегетации растений варьировали по годам (табл. 1). Сезон 2016 г. отличался засушливыми условиями: в каждый календарный месяц в период вегетации (июнь–август) среднесуточная температура была выше среднесуточных значений на 1.6–4.8 °С, а сумма осадков была меньше в три раза (гидро-термический коэффициент, ГТК = 0.02). Сезон 2017 г.

характеризовался значительным избытком атмосферных осадков в первой половине вегетации растений (от появления всходов до начала цветения), при этом в июне, в фазу трубкования, значения среднесуточной температуры были ниже среднесуточных. В 2018 г. первая половина вегетации, до начала цветения, протекала в засушливых условиях, тогда как во второй половине вегетации, начиная с середины июля (в период цветения сорго), наблюдалось выпадение значительного количества осадков.

Для изучения влияния условий влагообеспеченности на проявление мужской фертильности и характера наследования восстановительной способности использовали делянки с разными селективными фонами: с дополнительным поливом (два раза в неделю по 7–8 л/м², начиная с фазы трубкования до завершения цветения) (влагообеспеченный фон) и без полива (засушливый фон). Для получения засушливого фона делянку перед началом фазы трубкования накрывали конструкцией, изготовленной из светопрозрачного поликарбоната, предотвращавшей попадание на делянку атмосферных осадков.

Использованные в работе гибриды F₁ были получены путем индивидуальных скрещиваний растений линии КВВ-96, выращиваемых в засушливом фоне и на влагообеспеченном фоне (с каждого фона по два опылителя), с растениями ЦМС-линии А₃ КП-70, выращиваемыми в опытном поле при естественном режиме влагообеспеченности. Гибриды F₁, полученные от индивидуальных скрещиваний, выращивали в 2016–2018 гг. на делянках с засушливым и влагообеспеченным фоном (четыре гибридные комбинации на каждом фоне). В качестве контроля для оценки влияния селективных фонов на фертильность растений в каждой из делянок анализировали потомство четырех отцовских растений-опылителей.

Семьи F₂, полученные от индивидуальных самоопыленных гибридов F₁ с разных селективных фонов, и ВС₁, полученные от скрещивания гибридов F₁ с ЦМС-линией А₃КП-70, выращивали в 2017–2018 гг. на опытном поле при естественном режиме влагообеспеченности. Некоторые семьи F₂ дополнительно выращивали на делянке с влагообеспеченным фоном. Одну из гибридных популяций F₂ (А₃ Топаз/КВВ-96) выращивали в климатической камере LGC-4203 (Daihan, Корея) при фотопериоде 14 ч день/10 ч ночь, относительной влажности воздуха 70 % и температуре 28 °С день/24 °С ночь.

Для определения уровня мужской фертильности все растения перед цветением изолировали пергаментными

Таблица 1. Агроклиматические условия в период проведения экспериментов¹

Месяц	Показатель											
	Температура воздуха, °С				Относительная влажность, %				Осадки, мм			
	Средняя многолетняя	2016 г.	2017 г.	2018 г.	Средняя многолетняя	2016 г.	2017 г.	2018 г.	Средняя многолетняя	2016 г.	2017 г.	2018 г.
Май	15.0	16.1	14.0	18.3	52	62.9	57.5	50.0	43	77.2	99.3	28.1
Июнь	19.4	21.0	18.0	19.9	54	52.8	60.7	46.9	45	9.0	66.7	14.1
Июль	21.4	23.6	21.8	22.8	56	53.9	62.1	60.2	51	28.8	51.3	88.7
Август	19.9	24.7	22.8	23.7	58	48.6	58.0	51.2	44	8.3	9.1	4.4

¹ По данным лаборатории гидрометеорологии НИИСХ Юго-Востока (г. Саратов).

изоляторами. В зависимости от уровня завязываемости семян растения классифицировали как стерильные (с) (0 % семян), полустерильные (пс) (< 40 %, как правило, 10–20 %), ф – фертильные (> 40 %, как правило, 80–100 %).

Для цитологического анализа пыльцы веточки с разных частей метелок гибридов F_1 и потомства растений-опылителей фиксировали в ацетоалкоголе (1:3), дважды промывали и хранили в 75 % спирте при температуре 4–6 °С. Препараты готовили из смеси пыльников, извлеченных из 10–15 зафиксированных веточек индивидуальных растений. Пыльцу окрашивали 1 % раствором йода в йодистом калии. У каждого растения отдельно анализировали пыльцу из гермафродитных и мужских цветков. В каждом препарате подсчитывали по 100 пыльцевых зерен в четырех повторениях. Всего на каждом селективном фоне было изучено по 15–17 растений F_1 и столько же индивидуумов из потомства отцовских растений-опылителей.

Показатели дефицита влажности воздуха в фазу цветения были предоставлены лабораторией гидрометеорологии ФГБНУ «НИИСХ Юго-Востока». При этом для каждого растения вычисляли индивидуальный показатель, представлявший собой среднюю величину из суммы показателей за пять дней до начала цветения верхушки метелки и пять дней после начала цветения.

Статистический анализ расщеплений в популяциях F_2 и BC_1 проводили с использованием критерия χ^2 с поправкой Йейтса на непрерывность, а также прямого теста Фишера (McDonald, 2014), при этом осуществляли проверку гипотез моно- и дигенного контроля. Значимость различия уровня фертильности в разных опытных вариантах выявляли с помощью дисперсионного анализа с использованием пакета программ AGROS, версия 2.09 (С.П. Маргыннов, Институт общей генетики РАН). Различия количества фертильных и стерильных растений в семьях, выращенных при разных режимах влагообеспеченности, оценивали с помощью сравнения долей по методу Фишера (Зайцев, 1984).

Результаты

Влияние стресса засухи на восстановление фертильности у гибридов F_1 . Анализ завязываемости семян у гибридов F_1 ♀ A_3 КП-70 × ♂КВВ-96, выращенных при разных режимах влагообеспеченности, показывает, что линия КВВ-96 обладает способностью к восстановлению фертильности ЦМС типа A_3 (табл. 2). Однако в условиях засухи доля фертильных растений среди гибридов F_1 значительно снижается, а доля полустерильных растений возрастает по сравнению с влагообеспеченным фоном. Эти данные свидетельствуют, что условия влагообеспеченности растений регулируют экспрессию генов-восстановителей линии КВВ-96, что необходимо учитывать при анализе расщеплений в семьях F_2 и BC_1F_1 .

Спорофитный тип восстановления мужской фертильности в ЦМС A_3 . В соответствии с гипотезой о гаметофитной природе восстановления мужской фертильности в ЦМС-индуцирующей цитоплазме A_3 двумя генами-восстановителями фертильности (Tang et al., 1998; Pring et al., 1999) гибриды F_1 , полученные от скрещивания ЦМС-линий (*rf3rf3rf4rf4*) с линией IS1112c (*Rf3Rf3Rf4Rf4*), имеют генотип *Rf3rf3Rf4rf4*. В результате мейоза у таких

Таблица 2. Характеристика мужской фертильности гибридов F_1 сорго ♀ A_3 КП-70 × ♂КВВ-96, выращенных при разных режимах влагообеспеченности (2016 г.)

Фон влагообеспеченности	Доля растений (%) с уровнем фертильности ^а		
	ф	пс	с
Делянка с поливом	98.0 a	1.3	0.7
Засушливая делянка	76.9 b	16.9	6.2
F	36.05**	8.80	4.18

Примечание. ^а – средние от четырех повторностей; ф – фертильные (завязываемость семян > 40 %, как правило, 80–100 %), пс – полустерильные (< 40 %, как правило, 10–20 %), с – стерильные растения (0 % семян); данные, обозначенные разными буквами, значительно различаются при $p < 0.05$; ** $p < 0.01$.

гибридов формируются четыре класса гамет (*Rf3Rf4*, *Rf3rf4*, *rf3Rf4*, *rf3rf4*), при этом только пыльцевые зерна, имеющие генотип *Rf3Rf4*, оказываются фертильными, тогда как пыльцевые зерна с другими генотипами дегенерируют. В связи с этим в поколении F_2 должны присутствовать только растения с восстановленной мужской фертильностью, поскольку участвующие в оплодотворении пыльцевые зерна несут гены-восстановители фертильности. Аналогичным образом в беккроссе гибрида F_1 с материнской ЦМС-линией должны присутствовать только растения с восстановленной мужской фертильностью (*Rf3rf3Rf4rf4*).

Однако в наших экспериментах в семьях F_2 , полученных от скрещивания ЦМС-линий на цитоплазме A_3 с линией КВВ-96, созданной на основе линии IS1112C, в разных условиях внешней среды (на делянках с влагообеспеченным фоном, при естественном режиме влагообеспеченности на опытном поле, в климатической камере) регулярно наблюдались растения с мужской стерильностью. Наиболее показательны данные, полученные при анализе расщеплений на делянке с влагообеспеченным фоном и в климатической камере с высокой относительной влажностью воздуха (70 %), поскольку в таких условиях отсутствует воздействие засухи, которая препятствует восстановлению фертильности в A_3 -типе ЦМС (Kozhemyakin et al., 2017).

Так, в 2016 г. (см. табл. 3) на делянке с влагообеспеченным фоном соотношение растений с восстановленной фертильностью (ф+пс) и стерильных растений (с) соответствовало дигенному расщеплению 15:1 либо 12ф:3пс:1с при выделении в отдельный класс растений с неполной экспрессией мужской фертильности. Такое расщепление свидетельствовало, что восстановление фертильности в условиях влагообеспеченного фона контролируется двумя генами-восстановителями фертильности. При выращивании этой же семьи F_2 в засушливом фоне соотношение растений с полностью или частично восстановленной фертильностью и стерильных растений отличалось от дигенных типов расщепления, но соответствовало моногенному расщеплению 3:1 (табл. 3), которое указывало на ингибирование экспрессии одного из генов-восстановителей в условиях засухи. Причины,

Таблица 3. Расщепление в поколении F₂ гибрида ♀A₃ Топаз × ♂КВВ-96 в разных условиях внешней среды, 2016 г.

Фон влагообеспеченности	Число растений			Соотношение	χ ²	p
	ф	пс	с			
Влагообеспеченный	35	9	4	15(ф+пс):1с	0.154	0.694
				12ф:3пс:1с	0.157	0.924
Засушливый	27	18	18	3(ф+пс):1с	0.161	0.688
Климатическая камера	11	9	4	3(ф+пс):1с	0.505	0.477

Таблица 4. Расщепление по фертильности растений в поколении F₂ гибридов ♀A₃ КП-70 × ♂КВВ-96 и в BC₁F₁ с материнской ЦМС-линией при выращивании в грядке с дополнительным поливом, 2017 г.^a

Гибридная комбинация	Число растений, шт.			Соотношение	χ ²	p
	ф	пс	с			
F ₂ (♀A ₃ КП-70 × ♂КВВ-96-1)	71	10	4	12ф:3пс:1с	1.859	0.395
F ₂ (♀A ₃ КП-70 × ♂КВВ-96-5)	74	21	3	12ф:3пс:1с	1.231	0.540
BC ₁ [♀A ₃ КП-70 × (♀A ₃ КП-70 × ♂КВВ-96-1)]	7	23	1 ^б			
BC ₁ [♀A ₃ КП-70 × (♀A ₃ КП-70 × ♂КВВ-96-5)]	6	26	3 ^б			

Примечание. ^a – усредненные показатели дефицита влажности воздуха в период цветения: среднесуточный – 15.1 гПа; максимальный – 31.2 гПа; ^б – при переносе в климатическую камеру развивались метелки с 30 % завязываемостью семян; ^в – 1 % завязывания семян.

обусловившие расщепление 3:1 в условиях климатической камеры, не ясны. Возможно, при большем размере выборки характер расщепления в климокамере был бы иным.

В сезоне 2017 г. изучали расщепление в потомстве гибридов F₁ ♀A₃ КП-70 × ♂КВВ-96, при этом размер популяций F₂, выращиваемых на влагообеспеченном фоне, был увеличен. Вновь, как и в потомстве гибридов F₁ ♀A₃ Топаз × ♂КВВ-96, в семьях F₂ присутствовали стерильные растения, что свидетельствовало в пользу спорофитного типа восстановления фертильности. Соотношение фертильных, полустерильных и стерильных индивидуумов соответствовало дигенному расщеплению 12:3:1 (табл. 4). Примечательно, что стерильные растения из семей F₂, перенесенные из делянки с дополнительным поливом в климокамеру с 70 % относительной влажностью воздуха, формировали мужски-стерильные метелки. Этот факт свидетельствовал, что мужская стерильность таких растений обусловлена генотипом, но не дефицитом влажности воздуха во время цветения. В семьях BC₁F₁, полученных при опылении материнской ЦМС-линии пыльцой гибридов F₁, стерильные растения, однако, отсутствовали (см. табл. 4).

Причины расхождения результатов расщепления в F₂ и BC₁ не ясны. Возможно, они связаны с различиями в функционировании систем восстановления фертильности у растений BC₁ и F₂ или с гаметным отбором у растений F₁, поскольку для получения BC₁ была использована пыльца с метелок побегов кушения, тогда как расщепление в F₂ анализировали в потомстве метелок с главного стебля. При этом среднесуточный дефицит влажности воздуха при цветении метелок побегов кушения был 15.8 гПа, тогда как при цветении главных побегов – 24.9 гПа. Возможно, дефицит влажности воздуха является фактором,

влияющим на функционирование гаметофитных генов-восстановителей фертильности и тем самым способствующим селекции тех или иных классов пыльцевых зерен.

В сезоне 2018 г. анализировали семьи F₂, полученные от гибридов F₁, выращенных в условиях влагообеспеченного и засушливого фона, при этом анализируемые популяции выращивали в условиях опытного поля и влагообеспеченного фона. Во всех анализируемых семьях присутствовало значительное число стерильных и полустерильных растений (табл. 5), однако при анализе наблюдавшихся расщеплений учитывали только стерильные растения, которые цвели в те же дни, что и фертильные растения, и, следовательно, их стерильность была обусловлена не дефицитом влажности воздуха, а генотипом.

В семьях F₂, выращенных на влагообеспеченном фоне, соотношение фертильных, полустерильных и стерильных растений соответствовало дигенному расщеплению 9ф:6пс:1с. Возможно, в условиях 2018 г. фертильными оказывались только растения, в генотипе которых присутствовали оба гена-восстановителя (с генотипом *Rf3-Rf4*), тогда как растения, в генотипе которых был только один доминантный ген (*Rf3* или *Rf4*), имели полустерильный фенотип. В BC₁ соотношение растений с частичным восстановлением фертильности и стерильных растений соответствовало расщеплению 3пс:1с (см. табл. 5), которое должно было наблюдаться при наличии четырех классов мужских гамет (*Rf3Rf4*; *rf3Rf4*; *Rf3rf4*; *rf3rf4*) у дигетерозиготных отцовских растений – гибридов F₁, которые скрещивали с растениями ЦМС-линии (*rf3rf3rf4rf4*). Эти данные подтверждают спорофитный тип восстановления фертильности у гибридов F₁.

Примечательно, что при выращивании в полевых условиях в семьях F₂, полученных от гибридов F₁, созданных с участием отцовских родителей, выращенных в

Таблица 5. Характеристика мужской фертильности растений в гибридных комбинациях на цитоплазме А₃ в 2018 г.^а

Гибридная комбинация	Поколе- ние	Условия выращивания ^б			Число растений			Соотно- шение	χ^2	<i>p</i>
		♂	F ₁	F ₂ (BC ₁)	φ	пс	с			
♀А ₃ КП-70 × ♂КВВ-96-1 зас	F ₂	Зас	Зас	Вл	42	25	7	9ф:6пс:1с	0.943	0.624
♀А ₃ КП-70 × ♂КВВ-96-2 вл	F ₂	Вл	Вл	Вл	44	27	2	9ф:6пс:1с	–	0.707
♀А ₃ КП-70 × ♂(А ₃ КП-70/КВВ-96-2 вл)	BC ₁	Вл	Вл	Вл	–	23	8	3пс:1с	0.011	0.916
♀А ₃ КП-70 × ♂КВВ-96-1 зас	F ₂	Зас	Вл	Поле	29 (42.0 %)	23	17 (24.6 %)	9ф:6пс:1с	40.13	0.0
								3(φ+пс):1с	0.005	0.944
♀А ₃ КП-70 × ♂КВВ-96-2 вл	F ₂	Вл	Вл	Поле	51 (54.3 %)	34	9 (9.6 %)*	9ф:6пс:1с	1.225	0.542
♀А ₃ КП-70 × ♂КВВ-96-1 зас	F ₂	Зас	Зас	Поле	18 (26.5 %)	35	15 (22.1 %)	9ф:6пс:1с	41.451	0.0
								3(φ+пс):1с	0.176	0.675
♀А ₃ КП-70 × ♂КВВ-96-2 вл	F ₂	Вл	Зас	Поле	49 (51.6 %)**	35	11 (11.6 %)	9ф:6пс:1с	3.796	0.150
Всего по (♀А ₃ КП-70 × ♂КВВ-96-1 зас)	F ₂	Зас		Поле	47 (34.3 %)	58	32 (23.4 %)			
Всего по (♀А ₃ КП-70 × ♂КВВ-96-2 вл)	F ₂	Вл		Поле	93 (53.1 %)**	62	20 (11.4 %)**			

Примечание. ^а – усредненные показатели дефицита влажности воздуха в период цветения: среднесуточный – 10.1 гПа; максимальный – 19.5 гПа; ^б – зас – засушливый фон; вл – влагообеспеченный фон (делянка с дополнительным поливом); *, ** – отличается от доли растений аналогичного класса фертильности в потомстве, полученном при использовании опылителя, выращенного в засушливом фоне, соответственно, на первом или втором уровне значимости ($p < 0.05$ или $p < 0.01$).

засушливом фоне (КВВ-96-♂1зас), характер расщепления отклонялся от дигибридного (9:6:1) и соответствовал моногенному расщеплению 3:1, показывая, что один из генов-восстановителей отцовского родителя не функционирует в этих семьях (см. табл. 5).

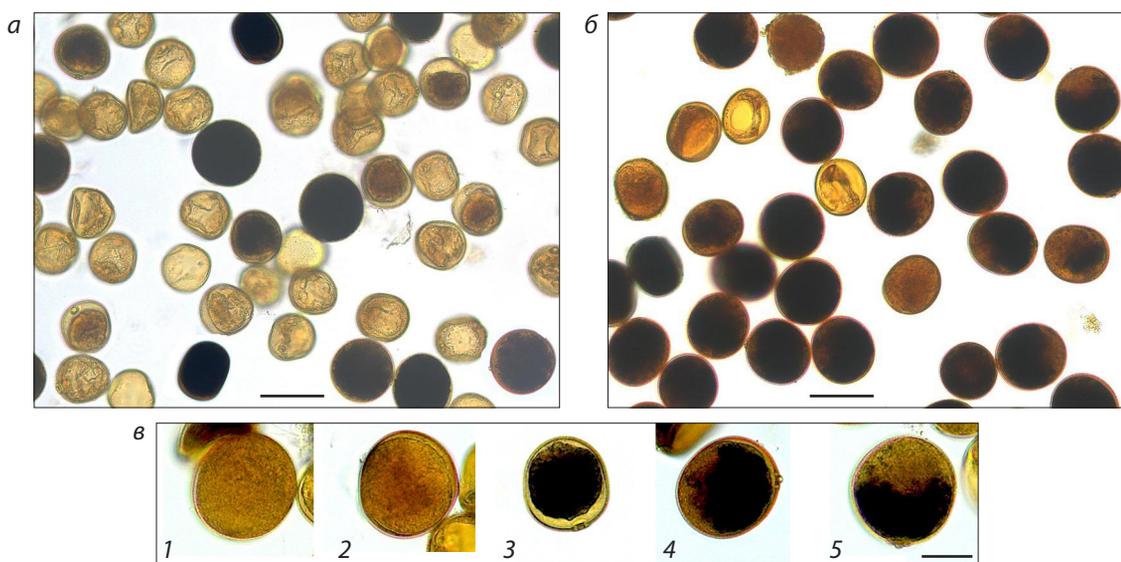
Детальный анализ характера экспрессии мужской фертильности у растений в поколении F₂ показал, что условия выращивания гибридов F₁ не влияют на характер расщепления в F₂. Однако условия выращивания линии-опылителя (донора генов *Rf*) меняли характер расщепления в потомстве гибридов F₁ (см. табл. 5). В семьях F₂, полученных при использовании в качестве донора генов *Rf* опылителя из засушливого фона (КВВ-96-♂1зас), доля стерильных растений была значимо выше ($p < 0.01$), а доля фертильных растений ниже ($p < 0.01$), чем при использовании в качестве донора генов *Rf* опылителя, выращенного на влагообеспеченном фоне (КВВ-96-♂2вл). В результате в семьях F₂, полученных на основе донора генов *Rf* из влагообеспеченного фона, наблюдалось дигибридное расщепление 9:6:1, тогда как в семьях, полученных на основе донора генов *Rf* из засушливого фона, соотношение индивидуумов с восстановленной фертильностью соответствовало моногенному расщеплению 3:1. Этот результат, возможно, указывал на ингибирование под влиянием засухи одного из генов *Rf* у растения-донора пыльцы, выращенного в условиях «засушлика», которое носит наследуемый (трансгенерационный) характер. Такой эффект наследовался в течение двух поколений. Однако при выращивании семьи F₂, полученной на основе донора генов *Rf* из засушливого фона (КВВ-96-♂1зас), на влагообеспеченном фоне (см. табл. 5, первая строка), расщепление в ней соответствовало соотношению 9:6:1. Этот факт свидетельствует об обратимости индуцирован-

ного засухой ингибирования экспрессии гена-восстановителя фертильности с помощью повышенного уровня влагообеспеченности растений. Эти данные, по-видимому, являются примером трансгенерационного влияния условий выращивания донора генов *Rf* на характер экспрессии этих генов в поколении F₂.

Цитологический анализ пыльцы гибридов F₁. С учетом того, что при спорофитном типе восстановления фертильности пыльца у гибридов F₁ содержит преимущественно фертильные ПЗ, тогда как при гаметофитном восстановлении фертильности должно наблюдаться расщепление по типам ПЗ (фертильные: стерильные), нами был проведен цитологический анализ пыльцы гибридов F₁ ♀А₃ КП-70 × ♂КВВ-96. Было обнаружено, что в пыльниках фертильных гибридов присутствует значительное количество стерильных ПЗ, причем доля фертильных ПЗ, полностью лишенных признаков дегенерации, была низкой (3–7 %) и не соответствовала 25 %, которые следовало ожидать, исходя из литературных данных (Pring et al., 1999) (табл. 6). Значительная часть ПЗ, выглядевших как фертильные на малом увеличении, при детальном исследовании на больших увеличениях имела нарушения накопления крахмала, отрыв содержимого ПЗ от клеточной стенки (рисунок). Кроме того, наблюдались ПЗ с изменением окраски крахмала, обусловленным, по-видимому, замещением амилозы амилопектином. Однако, если предполагать, что эти нарушения не оказывают влияния на способность ПЗ к оплодотворению, то соотношение совокупности всех «фертильных» и стерильных ПЗ действительно соответствовало расщеплению 1:3 у растений из влагообеспеченного фона № 161-1 ($\chi^2 = 1.08$, $p = 0.299$) и № 165-2 ($\chi^2 = 0.013$, $p = 0.909$), тогда как у одного из растений из засушливого фона доля фертильной

Таблица 6. Результаты цитологического анализа пыльцы, сформировавшейся в гермафродитных цветках, у гибридов F₁ сорго с ЦМС A₃-типа и у растений линии-опылителя с тем же типом цитоплазмы, выращенных в засушливом и влагообеспеченном (на делянке с дополнительным поливом) фонах (2017 г.)

Растение, уровень завязываемости	Кол-во пыльцевых зерен, %		
	фертильных	стерильных	
	Всего	В том числе без признаков дегенерации	
Влагообеспеченный фон			
КВВ-96 (100 %)	75.2±2.4	42.3±7.5	24.5±4.0
161-1 (F ₁ A ₃ КП-70/КВВ-96), 70 %	30.2±3.6	2.7±1.1	69.8±3.6
165-2 (F ₁ A ₃ КП-70/КВВ-96), 100 %	26.0±1.1	5.0±0.5	74.0±1.1
Засушливый фон			
КВВ-96 (60 %)	80.7±3.7	31.3±3.3	20.2±4.0
КВВ-96 (40 %)	75.4±2.4	18.5±2.6	24.5±4.0
161-9 (F ₁ A ₃ КП-70/КВВ-96), 100 %	29.0±3.4	10.0±2.1	71.0±3.4
165-9 (F ₁ A ₃ КП-70/КВВ-96), 90 %	39.2±2.3	4.0±0.4	60.8±2.3
167-7 (F ₁ A ₃ КП-70/КВВ-96), 100 %	32.2±1.4	3.2±1.2	67.8±1.3



Пыльца фертильных гибридов F₁ ♀ A₃ КП-70 × ♂ КВВ-96 (а) и линии-восстановителя фертильности КВВ-96 (б), шкала 50 мкм; в – разные типы пыльцевых зерен (ПЗ): 1, 2 – изменение окраски крахмала, 2–4 – отрыв содержимого ПЗ от клеточной стенки, 4, 5 – нарушение накопления крахмала; шкала 20 мкм.

пыльцы была выше и соответствие соотношению 1:3 отсутствовало (№ 165-9: $\chi^2 = 9.72, p < 0.01$).

Эти данные означают, что в условиях засушливого фона могли развиваться не только ПЗ, содержащие оба доминантных гена, *Rf3* и *Rf4*, но и ПЗ, содержащие рецессивные аллели этих генов. Значительные отклонения от ожидаемого соотношения 1:3 в пользу преобладания фертильной пыльцы наблюдались в пыльниках мужских цветков у всех изученных растений (данные не представлены). Следует отметить, что у отцовских растений-опылителей также присутствовали ПЗ с вышеописанными типами нарушений, однако доля фертильной пыльцы у них была значительно выше, по сравнению с гибридами.

Таким образом, представленные данные цитологического анализа свидетельствуют о вероятности образования у гибридов F₁, гетерозиготных по генам-восстановителям *Rf3* и *Rf4*, пыльцевых зерен, несущих рецессивные аллели генов-восстановителей. Возможно, у созданных нами ЦМС-линий гены-восстановители *Rf3* и *Rf4* начинают функционировать уже в тканях спорофита, нормализуя развитие некоторой доли ПЗ, несущих рецессивные аллели этих генов (*rf3* и *rf4*), которые участвуют в оплодотворении и дают начало стерильным генотипам, выявляемым в F₂ или в BC₁. Однако такое раннее функционирование этих генов способствует развитию только части ПЗ, значительное число пыльцевых зерен, без генов-восстанови-

Таблица 7. Влияние отбора в семьях гибридов F₂ ♀А₃Топаз × ♂КВВ-96 в контрастных по дефициту влажности воздуха условиях в период цветения на проявление мужской фертильности в самоопыленном потомстве (F₃)

Семья	Число растений с уровнем фертильности, шт.			Уровень фертильности, %	Дефицит влажности воздуха в период цветения, гПа
	100–71%	70–51 %	< 50 %		
Семьи F ₃ от растений F ₂ , которые цвели при дефиците влажности воздуха 13.8 гПа					
8/2	4	5	6	57.7	16.4
9/2	7	3	5	63.0	16.4
10/1	5	3	7	60.7	16.2
10/2	6	3	6	62.7	16.5
Всего	22	14	24	61.0 а	16.4
Семьи F ₃ от растений F ₂ , которые цвели при дефиците влажности воздуха 23.0 гПа					
11/1	9	5	0	76.0	16.9
11/2	10	4	0	81.0	16.6
13/1	11	4	0	83.7	16.7
13/2	10	4	0	81.9	16.3
Всего	40	17	0	80.7 b	16.6
F				300.3**	
HCP ₀₅				3.6	

Примечание. Данные, отмеченные разными буквами, различаются при $p < 0.05$ в соответствии с тестом множественных сравнений Дункана; ** $p < 0.01$.

телей, все же дегенерирует, как показывают результаты цитологического анализа пыльцы. На справедливость этой гипотезы указывает наличие большого числа «промежуточных» фенотипов ПЗ, с признаками частичной дегенерации (см. рисунок), что не было описано ранее в литературе.

Отбор на устойчивость к дефициту влажности воздуха. Вода и ее перемещение внутри пыльника, а также давление водяного пара в окружающей среде играют важную роль в функционировании механизмов, обеспечивающих раскрытие пыльника и распыление пыльцы (Wilson et al., 2011). Как известно, показателем, характеризующим давление водяного пара в окружающей среде, служит дефицит влажности воздуха – разность между максимально возможной и фактической упругостью водяного пара при данных температуре и давлении.

Учитывая, что дефицит влажности воздуха в фазу цветения подавляет функционирование генов-восстановителей ЦМС А₃ сорго (Kozhemyakin et al., 2017), мы поставили эксперимент по изучению возможности отбора на устойчивость к этому фактору (табл. 7). В гибридной популяции F₂ ♀А₃Топаз × ♂КВВ-96 в 2016 г. были отобраны две группы полностью фертильных растений, цветение которых протекало при дефиците влажности воздуха 13.8 и 23.0 гПа. В 2017 г. при цветении в условиях 16.4–16.6 гПа в поколении F₃ уровень фертильности в этих группах отборов значимо различался: 61.0 и 80.7 % соответственно ($p < 0.01$) (см. табл. 7). Детальный анализ показал, что выявленные различия оказались обусловлены присутствием в первой группе растений с невысоким уровнем мужской фертильности (< 50 %), тогда как во второй группе такие растения полностью отсутствовали. Эти данные свидетельствуют о наличии генетического

фактора, обуславливающего устойчивость к дефициту влажности воздуха, действующего на стадии цветения и влияющего на экспрессию генов-восстановителей мужской фертильности ЦМС А₃. По-видимому, в условиях высокого дефицита влажности воздуха (23.0 гПа) восстановление фертильности было возможно только при гомозиготности по этому гену, в результате чего в потомстве этих растений расщепление отсутствовало, тогда как при отборе в условиях низкого дефицита влажности (13.8 гПа) фертильными могли быть гетерозиготы, расщепление которых мы наблюдали в F₃ (см. табл. 7). Полученные результаты указывают на эффективность отбора на устойчивость системы восстановления фертильности А₃-типа ЦМС к дефициту влажности воздуха.

Обсуждение

В соответствии с современными представлениями о закономерностях генетического контроля ЦМС, стерилизация мужской генеративной сферы происходит в результате функционирования митохондриальных ЦМС-индуцирующих генов, тогда как ядерные гены-восстановители фертильности, в большинстве случаев, блокируют их экспрессию на транскрипционном или посттранскрипционном уровне (Chase, Gabay-Laughnan, 2004; Horn et al., 2014; Bohra et al., 2016). При этом если функционирование гена-восстановителя начинается в тканях спорофита (пыльника), то восстановление фертильности носит спорофитный характер, при котором в пыльнике развиваются фертильные ПЗ, несущие доминантный ген-восстановитель фертильности, и ПЗ, несущие его рецессивный аллель, не обладающий способностью к восстановлению фертильности. Если же функционирование гена-восстановителя начинается на стадии гаметогенеза,

то фертильными оказываются только ПЗ, несущие гена-восстановитель, тогда как ПЗ, не содержащие гена-восстановителя, дегенерируют и не участвуют в оплодотворении (гаметофитный тип восстановления фертильности) (Kaul, 1988).

Полученные нами экспериментальные данные показывают некоторую условность такого подразделения. Появление стерильных растений в семьях F₂ и BC₁ с материнской ЦМС-линией, выращенных при разных режимах влагообеспеченности – на делянке с дополнительным поливом, в климатической камере при 70 % относительной влажности воздуха, на делянке с засушливым фоном, на опытном поле при естественных условиях влагообеспеченности, – свидетельствует в пользу спорофитного контроля восстановления фертильности в изученных гибридных комбинациях двумя генами-восстановителями. Учитывая, что источником генов-восстановителей служила линия IS112C, несущая гены-восстановители фертильности *Rf3* и *Rf4*, которые, по литературным данным (Tang et al., 1998; Pring et al., 1999), являются гаметофитными восстановителями фертильности, данный факт представляется исключительно интересным и необычным, поскольку считается, что гаметофитный и спорофитный типы восстановления фертильности контролируются разными генетическими системами (Kaul, 1988).

Вместе с тем результаты цитологического анализа пыльцы фертильных гибридов F₁, выявившего значительное количество дегенерирующих пыльцевых зерен, свидетельствуют о гаметофитном типе восстановления фертильности. По-видимому, в генотипах созданных нами ЦМС-линий гены-восстановители фертильности *Rf3* и *Rf4* функционируют иначе, нежели в генотипах ЦМС-линий, созданных в США на Техасской опытной станции. В работе индийских исследователей был также показан спорофитный тип наследования восстановления фертильности в ЦМС A₃, контролируемый тремя комплементарными генами-восстановителями (Reddy et al., 2010).

Возможно, в созданных нами ЦМС-линиях функционирование генов-восстановителей *Rf3* и *Rf4* начинается уже в тканях спорофита, нормализуя развитие некоторой части ПЗ, несущих рецессивные аллели этих генов (*rf3* и *rf4*), которые участвуют в оплодотворении и дают начало стерильным генотипам, выявляемым в семьях F₂ и BC₁. Примечательно, аналогичная гипотеза была высказана для объяснения появления стерильных растений в потомстве некоторых гибридов кукурузы с S-типом ЦМС, имеющим гаметофитный механизм восстановления фертильности (Duvick, 1965).

Следует отметить, что нами впервые обнаружено трансгенерационное влияние условий влагообеспеченности растений линии-восстановителя на характер расщепления по мужской фертильности в поколении F₂: опылитель, выращенный в условиях делянки с дополнительным поливом, формировал значительно больше фертильных и меньше стерильных индивидуумов по сравнению с опылителем, выращенным в условиях засушливого фона. При этом характер расщепления изменялся с дигенного на моногенный, свидетельствуя о наследуемом ингибировании экспрессии одного из генов-восстановителей в усло-

виях засухи (своеобразный «эффект дедушки»). Известно, что подобные трансгенерационные эффекты обусловлены разнообразными изменениями на эпигенетическом уровне (Hauser et al., 2011; Paszkowski, Grossniklaus, 2011; Kumar et al., 2015; Tricker, 2015; Alsdurf et al., 2016). В их основе лежат изменения характера метилирования ДНК, которые возникают, в том числе, в результате воздействия факторов внешней среды, в частности стресса засухи (Lukens, Zhan, 2007; Wang et al., 2011; Tricker et al., 2012; Zheng et al., 2013).

Возможно, именно изменения характера метилирования обуславливают утрату функциональной активности одного из генов-восстановителей ЦМС A₃ в условиях засухи. С помощью MSAP-анализа гибридов F₁ A₃ КП-70/КВВ-96 нам удалось выявить фрагменты ДНК, характер метилирования которых в контрастных по влагообеспеченности условиях коррелирует с проявлением мужской фертильности (Elkonin et al., 2019). Очевидно, изменение характера метилирования является важным механизмом, регулирующим восстановление фертильности в цитоплазме A₃ сорго.

Заслуживает также внимания показанная нами возможность отбора на устойчивость системы восстановления фертильности в цитоплазме A₃ к функционированию в условиях дефицита влажности воздуха в период цветения (см. табл. 7). Такой отбор может способствовать созданию новых восстановителей фертильности этого типа ЦМС и его использованию в селекции гибридного сорго.

Список литературы / References

- Зайцев Г.Н. Математическая статистика в экспериментальной ботанике. М.: Наука, 1984.
[Zaitsev G.N. Mathematical Statistics in Experimental Botany. Moscow: Nauka Publ., 1984. (in Russian)]
- Alsdurf J., Anderson C., Siemens D.H. Epigenetics of drought-induced trans-generational plasticity: consequences for range limit development. *AoB Plants*. 2016;8: plv146. DOI 10.1093/aobpla/plv146.
- Atkin O.K., Macherel D. The crucial role of plant mitochondria in orchestrating drought tolerance. *Ann. Bot.* 2009;103:581-597. DOI 10.1093/aob/mcn094.
- Bohra A., Jha U.C., Adhimoolam P., Bisht D., Singh N.P. Cytoplasmic male sterility (CMS) in hybrid breeding in field crops. *Plant Cell Rep.* 2016;35:967-993. DOI 10.1007/s00299-016-1949-3.
- Chase C.D., Gabay-Laughnan S. Cytoplasmic male sterility and fertility restoration by nuclear genes. Eds. H. Daniell, C.D. Chase. *Molecular Biology and Biotechnology of Plant Organelles*. New York: Springer, 2004;593-621.
- Dahlberg J.A., Madera-Torres P. Restorer reaction in A1 (AT×623), A2 (A2T×632), and A3 (A3SC 103) cytoplasms to selected accessions from the Sudan sorghum collection. *Int. Sorghum Millet Newsl.* 1997;38:43-58.
- Dolferus R., Powell N., Xuemei J.I., Ravash R., Edlington J., Oliver S., Van Dongen J., Shiran B. The physiology of reproductive-stage abiotic stress tolerance in cereals. Eds. G.R. Rout, A.B. Das. *Molecular Stress Physiology of Plants*. Dordrecht; Heidelberg; New York; London: Springer Science & Business Media, 2013;193-216. DOI 10.1007/978-81-322-0807-5_8.
- Duvick D.N. Cytoplasmic pollen sterility in corn. *Adv. Genet.* 1965; 13:1-56. DOI 10.1016/S0065-2660(08)60046-2.
- Elkonin L.A., Gerashchenkov G.A., Tsvetova M.I., Sarsenova S.Kh., Rozhnova N.A. Environmental effects on expression of A₃ type CMS of sorghum. *Intern. J. Plant Reprod. Biol.* 2019;11(2). Accepted for publication.

- Hauser M.T., Aufsatz W., Jonak C., Luschnig C. Transgenerational epigenetic inheritance in plants. *Biochim. Biophys. Acta.* 2011;1809(8): 459-468. DOI 10.1016/j.bbagr.2011.03.007.
- Horn R., Gupta K.J., Colombo N. Mitochondrion role in molecular basis of cytoplasmic male sterility. *Mitochondrion.* 2014;19:198-205. DOI 10.1016/j.mito.2014.04.004.
- Jacoby R.P., Li L., Huang S., Lee C.P., Millar A.H., Taylor N.L. Mitochondrial composition, function and stress response in plants. *J. Integr. Plant Biol.* 2012;54:887-906. DOI 10.1111/j.1744-7909.2012.01177.x.
- Kaul M.L.H. Male Sterility in Higher Plants (Monographs on Theoretical and Applied Genetics, Vol. 10). London: Springer-Verlag, 1988.
- Kozhemyakin V.V., Elkonin L.A., Dahlberg J.A. Effect of drought stress on male fertility restoration in A₃ CMS-inducing cytoplasm of sorghum. *Crop J.* 2017;5(4):282-289. DOI 10.1016/j.cj.2017.02.003.
- Kuhlman L.C., Pring D.R., Rooney W.L., Tang H.V. Allelic frequency at the *Rf3* and *Rf4* loci and the genetics of A₃ cytoplasmic fertility restoration in converted Sorghum lines. *Crop Sci.* 2006;46:1576-1580. DOI 10.2135/cropsci2005.10-0380.
- Kumar S., Kumari R., Sharma V. Transgenerational inheritance in plants of acquired defense against biotic and abiotic stresses: implications and applications. *Agric. Res.* 2015;4(2):109-120. DOI 10.1007/s40003-015-0170-x.
- Li S., Wan C., Hu C., Gao F., Huang Q., Wang K., Wang T., Zhu Y. Mitochondrial mutation impairs cytoplasmic male sterility rice in response to H₂O₂ stress. *Plant Sci.* 2012;195:143-150. DOI 10.1016/j.plantsci.2012.05.014.
- Liberatore K.L., Dukowicz-Schulze S., Miller M.E., Chen C., Kianian S.F. The role of mitochondria in plant development and stress tolerance. *Free Rad. Biol. Med.* 2016;100:238-256. DOI 10.1016/j.freeradbiomed.2016.03.033.
- Lukens L.N., Zhan S.H. The plant genome's methylation status and response to stress, implications for plant improvement. *Curr. Opin. Plant Biol.* 2007;10:317-322. DOI 10.1016/j.pbi.2007.04.012.
- McDonald J.H. Handbook of Biological Statistics (3rd ed.). Baltimore, Maryland: Sparky House Publ., 2014. (<http://udel.edu/~mcdonald/statexactbin.html>).
- Ng S., De Clercq I., Van Aken O., Law S.R., Ivanova A., Willems P., Giraud E., Van Breusegem F., Whelan J. Anterograde and retrograde regulation of nuclear genes encoding mitochondrial proteins during growth, development, and stress. *Mol. Plant.* 2014;7:1075-1093. DOI 10.1093/mp/ssu037.
- Paszowski J., Grossniklaus U. Selected aspects of transgenerational epigenetic inheritance and resetting in plants. *Curr. Opin. Plant Biol.* 2011;14:195-203. DOI 10.1016/j.pbi.2011.01.002.
- Pring D.R., Tang H.V., Howad W., Kempken F. A unique two-gene gametophytic male sterility system in sorghum involving a possible role of RNA editing in fertility restoration. *J. Hered.* 1999;90: 386-393.
- Reddy B.V.S., Ramesh S., Ortiz R. Genetic and cytoplasmic-nuclear male sterility in Sorghum. Ed. J. Janik. *Plant Breeding Reviews.* Hoboken; New Jersey: Willey & Sons, Inc., 2005;Vol. 25: 139-169.
- Reddy S.P., Rao M.D., Reddy B.V.S., Kumar A.A. Inheritance of male-fertility restoration in A₁, A₂, A₃ and A_{4(M)} cytoplasmic male-sterility systems of sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. *Indian J. Genet.* 2010;70(3):240-246.
- Tang H.V., Chang R., Pring D.R. Co-segregation of single genes associated with fertility restoration and transcript processing of sorghum mitochondrial *orf107* and *urf209*. *Genetics.* 1998;150:383-391.
- Tang H.V., Pedersen J.F., Chase C.D., Pring D.R. Fertility restoration of the sorghum A₃ male-sterile cytoplasm through a sporophytic mechanism derived from sudangrass. *Crop Sci.* 2007;47:943-950. DOI 10.2135/cropsci2006.08.0542.
- Torres-Cardona S., Sotomayor-Rios A., Quiles Belen A., Schertz K.F. Fertility restoration to A₁, A₂, and A₃ cytoplasm systems of converted sorghum lines. MP-1721. Texas Agric. Exp. Stn., Texas A&M Univ., College Station, 1990;1-11.
- Tricker P.J. Transgenerational inheritance or resetting of stress-induced epigenetic modifications: two sides of the same coin. *Front. Plant Sci.* 2015;6:699. DOI 10.3389/fpls.2015.00699.
- Tricker P.J., Gibbins J.G., Lopez C.M.R., Hadley P., Wilkinson M.J. Low relative humidity triggers RNA-directed *de novo* DNA methylation and suppression of genes controlling stomatal development. *J. Exp. Bot.* 2012;63(10):3799-3814. DOI 10.1093/jxb/ers076.
- Wang W.-S., Pan Y.J., Zhao X.-Q., Dwivedi D., Zhu L.-H., Ali J., Fu B.-Y., Li Z.-K. Drought-induced site-specific DNA methylation and its association with drought tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). *J. Exp. Bot.* 2011;62:1951-1960. DOI 10.1093/jxb/erq391.
- Wilson Z.A., Song J., Taylor B., Yang C. The final split: the regulation of anther dehiscence. *J. Exp. Bot.* 2011;62:1633-1649. DOI 10.1093/jxb/err014.
- Worstell J.V., Kidd H.J., Schertz K.F. Relationships among male-sterility inducing cytoplasmic systems of sorghum. *Crop Sci.* 1984;24(1): 186-189.
- Zheng X., Chen L., Li M., Lou Q., Xia H., Wang P., Li T., Liu H., Luo L. Transgenerational variations in DNA methylation induced by drought stress in two rice varieties with distinguished difference to drought resistance. *PLoS One.* 2013;8(11):e80253. DOI 10.1371/journal.pone.0080253.

ORCID ID

L.A. Elkonin orcid.org/0000-0003-3806-5697
V.V. Kozhemyakin orcid.org/0000-0002-8758-5819
M.I. Tsvetova orcid.org/0000-0002-5239-5097

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 16-04-01131). Авторы благодарны к.б.н. О.П. Кибальник (РосНИИСК «Россорго», Саратов, Россия) за предоставление семян линий зернового сорго КП-70 и Топаз, д-ру К.Ф. Шертцу (K.F. Schertz, Texas Agricultural Experimental Station, США) за семена линии АЗТх398, д-ру Х.Д. Упадхия (H.D. Upadhyaya, ICRISAT, Patancheru, Индия) за семена линии IS1112С. Авторы выражают благодарность рецензенту за критический анализ текста статьи и ценные замечания.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 17.12.2018. После доработки 03.03.2019. Принята к публикации 06.03.2019.