

doi 10.18699/vjgb-26-65

## Получение голозерных гибридов *Triticum durum* с *Triticum dicoccum* с антоциановой окраской перикарпа зерновки

Е.И. Гордеева <sup>1</sup> , А.Ю. Новосельская-Драгович <sup>2</sup>, О.Ю. Шоева <sup>1</sup>, Е.К. Хлесткина <sup>1,3</sup><sup>1</sup> Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия<sup>2</sup> Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, Россия<sup>3</sup> Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР), Санкт-Петербург, Россия elgordeeva@bionet.nsc.ru

**Аннотация.** Одно из перспективных направлений селекции – получение гибридов полбы с повышенным содержанием антоцианов в зерновке для производства функциональных продуктов питания. Проведено фенотипирование и дана предварительная оценка по наследованию глиадинкодирующих генов наиболее перспективных фиолетовозерных полбяных гибридов, полученных нами ранее после сложного трехступенчатого скрещивания фиолетовозерной твердой пшеницы (*T. durum* Desf.) с двумя разными формами яровой полбы (*T. dicoccum* Schrank): гибридным голозерным сортом Гремме и безостой краснозерной мутантной линией к-25516 (коллекции ВИР). Генотипирование гибридов по генам (*Gli*) запасных белков зерновки пшеницы – глиадинам – позволило отобрать фиолетовозерную линию, целиком наследующую глиадинкодирующие гены от полбы двузернянки к-25516, и линию с наследованием этих генов от твердой пшеницы и полбы двузернянки к-25516. Для улучшения селекционного материала было проведено возвратное скрещивание фиолетовозерных пшенично-полбяных гибридов, содержащих доминантные аллели *Pp-B1* и *Pp3*, с показавшим наилучшую урожайность белозерным голозерным сортом Гремме. Произведен маркер-контролируемый отбор растений поколения  $F_{2-4}$  по генам *Pp* (*Purple pericarp*), регулирующим биосинтез антоцианов в перикарпе зерновки. При отборе фиолетовозерных растений в потомствах  $F_{2-3}$  использование микросателлитных маркеров, близко расположенных к генам антоциановой окраски, не показало надежного сцепления с целевыми генами, однако позволило проследить у гибридов сложное наследование генетического материала от разных родителей. Разработанные нами внутривидовые полиморфные ПЦР-маркеры позволили точно отобрать образцы растений, несущие в ДНК одновременно доминантные аллели двух комплементарно взаимодействующих генов, *Pp-B1* и *Pp3*. Растения отбирались по признаку легкой обмолачиваемости зерен в  $F_4$ . Таким образом, за два года при использовании малых площадей тепличного комплекса при помощи маркер-контролируемой селекции в поколении  $F_4$  получена коллекция, состоящая из 25 голозерных и полуголозерных яровых фиолетовозерных линий пшенично-полбяных гибридов, константных по признаку антоциановой окраски перикарпа зерновок и различающихся по глиадинкодирующим генам.

**Ключевые слова:** голозерная полба; фиолетовая окраска зерна; антоцианы; глиадины; маркер-контролируемая селекция; ПЦР-маркеры

**Для цитирования:** Гордеева Е.И., Новосельская-Драгович А.Ю., Шоева О.Ю., Хлесткина Е.К. Получение голозерных гибридов *Triticum durum* с *Triticum dicoccum* с антоциановой окраской перикарпа зерновки. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2026;30(4):645-657. doi 10.18699/vjgb-26-65

**Финансирование.** Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 25-26-20157 (<https://grant.rscf.ru/site/user/bids?role=master>) и Министерства науки и инновационной политики Новосибирской области (соглашение от 21.04.2025 № 30-2025-001058).

**Благодарности.** Растения выращены в ЦПК репродукции растений ИЦИГ СО РАН в рамках бюджетного проекта FWNR-2026-0029. Авторы выражают признательность Г.В. Генераловой и О.В. Захаровой за техническую поддержку.

## Development of naked *Triticum durum* × *Triticum dicoccum* hybrids with anthocyanin color of the grain pericarp

E.I. Gordeeva <sup>1</sup> , A.Yu. Novoselskaya-Dragovich <sup>2</sup>, O.Yu. Shoeva <sup>1</sup>, E.K. Khlestkina <sup>1,3</sup><sup>1</sup> Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia<sup>2</sup> N.I. Vavilov Institute of General Genetics Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia<sup>3</sup> Federal Research Center the N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), St. Petersburg, Russia elgordeeva@bionet.nsc.ru

**Abstract.** The production of emmer hybrids with a high content of anthocyanins in the grains for the production of functional foods is a promising breeding direction. Phenotyping and preliminary assessment of the inheritance of gliadin-coding genes were performed for the most promising purple-grained emmer hybrids obtained previously after a complex three-stage crossing of purple-grained durum wheat (*T. durum* Desf.) with two different forms of spring emmers (*T. dicoccum* Schrank): the hybrid naked-grained variety Gremme and the red-grained awnless mutant line k25516. Genotyping hybrids for the storage protein genes in wheat grain, gliadins (*Gli*), enabled the selection of a purple-grained line that fully inherited gliadin-coding genes from emmer wheat k-25516, and a line inheriting these genes from durum wheat and emmer wheat k-25516. To improve the breeding material, backcrossing of three phenotypically and qualitatively different purple-grained hybrid lines with the parental variety Gremme, which demonstrated the highest yield, was conducted. During the *Pp* (*Purple pericarp*) genes selection of the plants in  $F_{2-3}$  progenies, the use of microsatellite markers located close to *Pp* genes did not demonstrate reliable linkage to the target genes. The intragenic polymorphic PCR markers made it possible to accurately select plants carrying dominant alleles of two complementarily interacting genes, *Pp-B1* and *Pp3* in  $F_{2-4}$ . Based on the ease of grain threshing, the plants were selected in  $F_4$ . Thus, over two years, using small areas of the greenhouse and marker-controlled selection, a collection consisting of 25 naked and semi-naked spring purple-grained lines of wheat-emmer hybrids, constant in anthocyanin coloration and differing in gliadin-coding genes and other quality traits, was obtained.

**Key words:** naked emmer; purple grain; anthocyanins; gliadins; marker assisted breeding; PCR markers

**For citation:** Gordeeva E.I., Novoselskaya-Dragovich A.Yu., Shoeva O.Yu., Khlestkina E.K. Development of naked *Triticum durum* × *Triticum dicoccum* hybrids with anthocyanin color of the grain pericarp. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii* = *Vavilov J Genet Breed.* 2026;30(4):645-657. doi 10.18699/vjgb-26-65

## Введение

Фиолетовая окраска зерновки у злаков определяется антоцианами, относящимися к классу флавоноидных соединений. Многочисленными исследованиями показано, что антоцианы положительно влияют на здоровье человека, обладая антиоксидантными, противовоспалительными, гипогликемическими, антимуtagenными свойствами (Liu et al., 2021; Dwivedi et al., 2022; Mohammadi, 2024). Антоцианы зерновки пшеницы оказывают профилактическое действие в отношении опухолевых и нейродегенеративных заболеваний (Tikhonova et al., 2020, 2024; Geyik et al., 2023).

Селекционную привлекательность представляют программы по созданию злаков с фиолетовой окраской зерен для использования их в качестве источника для производства обогащенных высококачественных крупяных продуктов и макаронных изделий. Одним из перспективных кандидатов для такого питания является полба (эммер, двузернянка, *Triticum dicoccum* Schrank, геном ВВАА,  $2n = 28$ ) – старинный пленчатый вид пшеницы, зерно которой традиционно использовалось в приготовлении каш. Полба была вытеснена более урожайной голозерной твердой пшеницей из-за трудности обмолота и низкой урожайности и как возделываемая культура сохранилась в ограниченных регионах Поволжья, Сибири и Северного Кавказа (Badaeva, 2015).

В настоящее время возрастающий интерес к полбе объясняется ее более высокими питательными свойствами, генетической изменчивостью и широкой экологической пластичностью (Гилев и др., 2018; Viradar et al., 2022). Она легко усваивается организмом и превосходит современные культурные твердую и мягкую пшеницу по содержанию растительного белка, ненасыщенных жирных кислот, клетчатки, железа, цинка, витаминов группы В, накапливая в зерновке больше антиоксидантов, что делает ее важным компонентом здорового питания (Захарова, Толстова, 2019; Şahin, Karakas, 2022; Cabas-Lühmann et al.,

2023; Темирбекова и др., 2024). Ее можно использовать в качестве источника в селекции пшеницы с повышенными питательными качествами. Ряд образцов полбы устойчив к возбудителям заболеваний, что делает возможным выращивать растения без применения каких-либо опасных для здоровья человека химикатов и синтетических удобрений (Зверев и др., 2016; Кузнецова и др., 2020; Viradar et al., 2022).

Одно из основных препятствий для практического использования полбы – это сложность отделения зерна от оболочек. Селекционеры в последние годы сосредоточили свои усилия на создании сортов, у которых зерновка легко отделяется от колосковой и цветковой оболочек, т.е. характеризуется более легким обмолотом. Эти новые формы двузернянки предложено классифицировать как подвид *Triticum dicoccon* (Schrank) Schübl. subsp. *nudicoccon* Kobyl. et Smekal. (Смекалова, Кобылянский, 2019).

Фиолетовозерные пшеницы были получены ранее методами классической гибридизации и отбора от тетраплоидного вида *T. aethiopicum* Jakubz. из Эфиопии (геном ВВАА,  $2n = 28$ ) (Zeven, 1991). Признак фиолетовой антоциановой окраски перикарпа пшеницы хорошо изучен и контролируется комплементарно взаимодействующими регуляторными генами биосинтеза антоцианов *Pp-B1* – в хромосоме 7В и *Pp3* – в хромосоме 2А у тетраплоидных видов и генами *Pp-D1* – в хромосоме 7D и *Pp3* – в хромосоме 2А у гексаплоидных видов (Khlestkina et al., 2010; Tereshchenko et al., 2012). При гибридизации гексаплоидной пшеницы *T. aestivum* L. (геном ВВААDD,  $2n = 42$ ) и последующем отборе гибридов с помощью молекулярных маркеров, тесно сцепленных с данными генами, можно легко контролировать участки ДНК, несущие доминантные аллели генов фиолетовой окраски перикарпа зерновки (Gordeeva et al., 2020). Нами разработаны диагностические внутригенные ДНК-маркеры ключевых регуляторных генов биосинтеза антоцианов в зерновках: *Pp1-diagnostic* и *Pp3-diagnostic* (Шоева и др., 2022; Гордеева и др., 2023). Эти

**Таблица 1.** Родословная образцов, используемых для гибридизации, и их характеристика

Образец	Образец/ родословная	Характеристика признаков	Источник происхождения (литературный источник)
1	<i>T. durum</i> образец Tri15744	Фиолетовозерная, раннеспелая, короткостебельная, остистые колосья, голозерная, твердая пшеница	Коллекция ИПК, Gatersleben
2	Сорт Греммэ = <i>T. dicoccum</i> сорт Белка *3/ <i>T. durum</i> сорт Светлана	Белозерный полбоид, раннеспелый, длинностебельный (среднерослый), остистые колосья, голозерный	Чистопольский ГСУ, Татарстан
3	к-25516 <i>T. dicoccum</i> Schrank Schuebl. convar. <i>serbicum</i> Zakharova	Краснозерная двузернянка, длинностебельная, средне-спелая, красно-рыжие стебель и колос, пленчатые зерна, безостый мутант, отобранный из полевой популяции	Коллекция ВИР, (Волго-Балканская полба)
4	27-15/8 F <sub>9</sub> (Tri15744/Греммэ//к-25516)	Фиолетовозерный, раннеспелый, длинностебельный, безостые колосья, полупленчатый гибрид	ИЦиГ СО РАН (Стёпочкин и др., 2023)
5	27-3 F <sub>8</sub> (Tri15744/Греммэ/*2 к-25516)	Фиолетовозерный, среднеспелый, длинностебельный, остистые колосья, полупленчатый гибрид	
6	31-16/6 F <sub>8</sub> (Tri15744/Греммэ/*2 к-25516)	Фиолетовозерный, раннеспелый, короткостебельный, безостые колосья, полуголозерный гибрид	

маркеры были успешно применены в процессе создания новых фиолетовозерных форм пшеницы с повышенными функциональными свойствами (Гордеева и др., 2023).

Несмотря на достижения в селекции гексаплоидной пшеницы (Фисенко и др., 2020; Василова и др., 2021; Рубец и др., 2022; Шаманин и др., 2024), в стране отсутствуют тетраплоидные сорта твердой пшеницы с высоким содержанием антоцианов. Методом многоступенчатой гибридизации двух различных форм яровой полбы на основе тетраплоидной твердой пшеницы, накапливающей антоцианы в перикарпе зерновки, с помощью маркер-ориентированной селекции нами созданы фиолетовозерные полуголозерные гибриды (Стёпочкин и др., 2023). Однако основные недостатки новых гибридов включают неполную обмолачиваемость зерна из цветковых и колосковых чешуй, ломкость колосового стержня и низкую урожайность. Пленчатые зерна полбы трудно обмолачивать без повреждения внешних оболочек, содержащих основные запасы антоциана. Кроме того, этот недостаток резко снижает селекционную ценность таких образцов. Поэтому создание линий полбы, обладающих голозерностью и более легким обмолотом, без повреждения целостности зародыша и внешней оболочки зерна является актуальной задачей, позволяющей сохранить полезные свойства полбы с антоциановым перикарпом.

В 2012 г. в Госреестр (<http://reestr.gossort.com/reestr/sort/9052467>) включен выведенный в Татарстане яровой полбоид – сорт Греммэ, для которого характерна голозерность. Сорт получен от межвидового скрещивания полбы *T. dicoccum* Schrank сорт Белка с твердой пшеницей *T. durum* Desf. сорт Светлана с последующими возвратными скрещиваниями на полбу (Темирбекова и др., 2020) и может служить исходным материалом для создания голозерных гибридов полбы.

Цель настоящей работы – получение новых, более высокопродуктивных голозерных пшенично-полбяных гибридов, имеющих повышенное содержание антоцианов в перикарпе зерновки. Для этого были проведены выборочная оценка содержания белков клейковины у полученных

ранее пшенично-полбяных гибридов и их родителей и скрещивание выбранных перспективных образцов с голозерным сортом Греммэ и с последующим маркер-контролируемым отбором фиолетовозерных растений.

## Материалы и методы

**Растительный материал и схема скрещивания.** В работе были использованы новые линии пшенично-полбяных гибридов, полученные от сложных насыщающих скрещиваний растений фиолетовозерной тетраплоидной пшеницы *T. durum* Tri15744 с полбоидом Греммэ и далее с краснозерной полбой *T. dicoccum* к-25516 в Институте цитологии и генетики СО РАН (Стёпочкин и др., 2023). Образцы пшеницы, используемые в гибридизации, и источники их происхождения представлены в табл. 1. Полная схема скрещивания приведена на рис. S1 Приложения<sup>1</sup>.

Для получения полностью голозерных более урожайных растений на трех контрастных образцах из полученных нами ранее гибридов (№ 4, 5, 6, см. табл. 1) с наибольшим содержанием антоцианов в зерновках были проведены прямые и обратные беккроссы с голозерным полбоидом Греммэ, показавшим самую высокую продуктивность при выращивании в полевых условиях (Стёпочкин и др., 2023). Номера 4 и 6 были отобраны среди раннеспелых фиолетовозерных образцов после генотипирования генов запасных белков – глиадинов. Растения среднеспелого номера 5 показали самое большое суммарное содержание антоцианов в зерновках после полевого выращивания 2019 г. (Стёпочкин и др., 2023).

После беккроссирования в поколениях F<sub>2</sub> и F<sub>3</sub> проведено отбор фиолетовозерных гибридов, гомозиготных по ключевым генам биосинтеза антоцианов в перикарпе зерновок, с помощью фенотипических и молекулярных маркеров.

**Генотипирование по генам запасных белков.** Генотипирование гибридов в процессе получения селекционного материала проводили по генам (*Gli*) запасных белков

<sup>1</sup> Рис. S1–S5 Приложения см. по адресу: <https://vavilovj-icg.ru/download/pict-2026-30/appx35.pdf>

зерна пшеницы – глиадином. Глиадинкодирующие гены (ГКГ) характеризуются множественным аллелизмом, позволяющим распознавать генотипы, и локализируются в двух из семи хромосом геномов А и В (локусы *Gli-A1*, *Gli-A2*, *Gli-B1*, *Gli-B2* на хромосомах 1А, 6А, 1В, 6В соответственно). Для выявления аллелей глиадинкодирующих генов применяли методику электрофореза глиадина отдельных зерновок в полиакриламидном геле (ПААГ) в кислом алюминий-лактатном буфере (рН 3.2) (Лабораторный анализ..., 2013).

В электрофоретическом спектре каждой зерновки, согласно каталогу (Melnikova et al., 2012), выявлены группы полипептидов, контролируемые разными аллелями глиадинкодирующих генов. Анализировали по 3–5 зерен с растения. Для каждой постановки анализировалось гомо- или гетерозиготное состояние аллелей по изучаемым генам, а также от каких родителей данные аллели унаследованы.

**Посев, фенотипирование и генотипирование гибридного материала.** Выращивание растений и гибридизацию осуществляли в гидропонной теплице ЦКП «Лаборатория искусственного выращивания растений» и опытных полях ИЦиГ СО РАН (55°02'N, 82°56'E). В поколениях F<sub>2</sub> и F<sub>3</sub> проводили отбор с использованием фенотипических маркеров антоциановой окраски вегетативных и генеративных частей растений и при помощи генотипирования ДНК растений с применением ПЦР-маркеров.

Темно-красная окраска колеоптиля использовалась в качестве визуального фенотипического маркера доминантного функционального гена *Pp-B1* (Khlestkina et al., 2008). Оценку окраски колеоптиля у замоченных в чашках Петри 4–5-дневных проростков выполняли перед посадкой в грунт. Фиолетовая окраска зерновок использовалась в качестве фенотипического маркера комплементарного взаимодействия одновременно двух ключевых доминантных генов, *Pp-B1* и *Pp3* (Tereshchenko et al., 2012). Визуальную

оценку окраски перикарпа у созревших зерен изучаемых растений проводили после сбора урожая.

**Генотипирование ДНК и молекулярные маркеры.** ДНК извлекали из молодых листьев растений по методике, описанной J. Plaschke с коллегами (1995). Для анализа выделенной ДНК гибридов и их родительских форм использовали полимеразную цепную реакцию (ПЦР) с внутривидными маркерами, разработанными к генам биосинтеза антоцианов *Pp-1* и *Pp3*, а также сцепленными с этими генами микросателлитными маркерами (табл. 2, рис. S2).

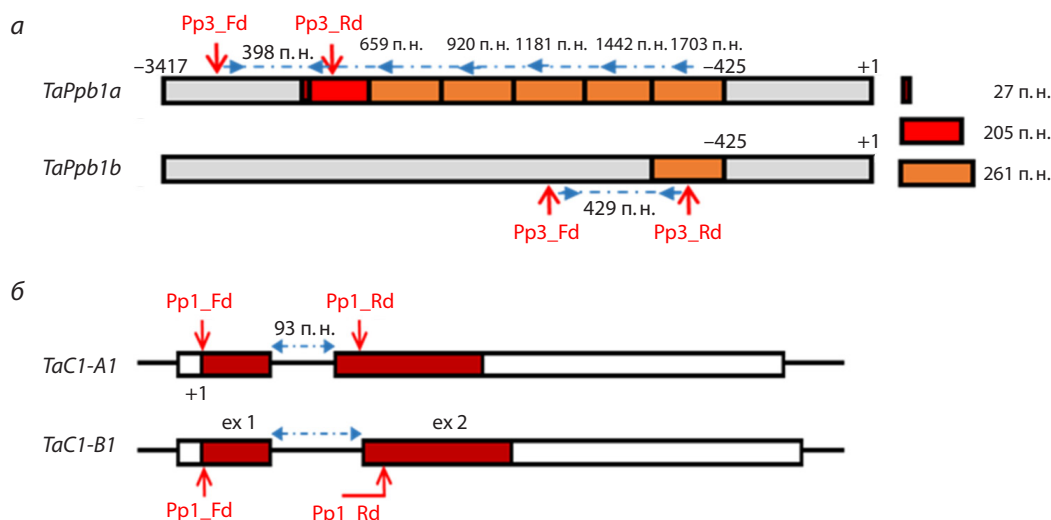
Для определения замещения участков хромосом и межсортового наследования хромосомных перестроек у гибридов применяли полиморфные SSR-маркеры (simple sequence repeats), выбранные из группы микросателлитных маркеров, сцепленных с геном *Pp3* на хромосоме 2А, – маркер *Xgwm0312* и с геном *Pp-B1* на хромосоме 7В – маркеры *Xgwm0046*, *Xgwm0400*, *Xgwm0537* (Gatersleben Wheat Marker) (Röder, 1998; Khlestkina et al., 2008; Гордеева и др., 2023). Соблюдали условия ПЦР, указанные в работе (Röder et al., 1998). Продукты ПЦР разделяли в 5 % HR (High resolution) агарозном геле высокого разрешения “HyAgarose™ HR Agarose” (ACTGene, Inc., Piscataway, NJ, США).

Для отбора растений тетраплоидной пшеницы, несущих доминантные аллели, вместе с микросателлитами, сцепленными с ключевыми генами *Pp*, в работе использовали аллель-специфические диагностические маркеры, амплифицирующие продукты ПЦР разной длины.

Разработанный нами ранее внутривидный аллель-специфичный ПЦР-маркер *Pp3-diagnostic* четко выявляет доминантные и рецессивные аллели гена *Pp3* у тетра- и гексаплоидных форм пшеницы, что позволяет отобрать доминантные аллели этого гена в гомозиготном состоянии (Шоева и др., 2022). Ранее в промоторе доминантного функционального аллеля гена *Pp3* было идентифициро-

**Таблица 2.** Используемые в работе молекулярные маркеры

Маркер	Локализация в хромосоме	Т отжига, °С	Структура прямого и обратного праймеров (литературный источник)	Размеры продуктов ПЦР, п. н.
<i>Pp3-diagnostic</i>	2А	Tdn 65–56	5'-TAGTGCCGTCTAACTGGTGA-3' 5'-ACGACGCCTAAGGAAACAC-3' (Шоева и др., 2022)	429/398
<i>Xgwm0312</i>	2А	60	5'-ATCGCATGATGCACGTAGAG-3' 5'-ACATGCATGCCTACCTAATGG-3' (Röder et al., 1998)	~200/230/300
<i>Pp1-diagnostic</i>	7В	Tdn 65–56	5'-ATGGGGAGGAGGGCGT-3' 5'-TGCCGAGCGTGCTGT-3' (Гордеева и др., 2023)	478/434
<i>Xgwm0046</i>	7В	60	5'-GCACGTGAATGGATTGGAC-3' 5'-TGACCCAATAGTGGTGGTCA-3' (Röder et al., 1998)	~180/190
<i>Xgwm0400</i>	7В	60	5'-GTGCTGCCACCACTTGC-3' 5'-TGTAGGCACTGCTGGGAG-3' (Röder et al., 1998)	~150/160/180
<i>Xgwm0537</i>	7В	60	5'-ACATAATGCTTCCTGTGCACC-3' 5'-GCCACTTTGTGTCGTTCT-3' (Röder et al., 1998)	~225/230



**Рис. 1.** Дизайн внутригенных ПЦР-маркеров для ДНК генов *Pp3* и *Pp1*.

*a* – в промоторной области функционального *TaPpb1a* (номер MG066455 в базе данных NCBI) и нефункционального *TaPpb1b* (номер MG066456 в базе данных NCBI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) аллелей по гомологии с нуклеотидной последовательностью гена *Pp3* (номер в базе данных NCBI: KJ747954). Оранжевым и красным цветом показаны 261-нуклеотидные повторы его части; *b* – схема последовательностей нефункционального и функционального аллелей *Pp-A1* и *Pp-B1* (син. *TaC1-A1* и *TaC1-B1*; (Himi, Taketa, 2015)) на хромосомах 7A и 7B соответственно. Функциональный аллель *Pp-B1* имеет более протяженный участок единственного интрона между двумя экзонами, на 28 пар нуклеотидов превышающий соответствующий участок нефункционального аллеля *Pp-A1* (голубые стрелки). Красными стрелками указаны места связывания ПЦР-праймеров маркеров *Pp3-diagnostic* и *Pp1-diagnostic*.

вано шесть тандемных повторов по 261 нуклеотиду; в рецессивном нефункциональном аллеле у сортов белозерной и краснозерной пшеницы обнаружен только один такой повтор (Jiang et al., 2018).

С помощью программы PrimerQuest™ Tool специфические олигонуклеотидные праймеры были созданы таким образом, что прямой праймер *Pp3\_Fd* отжигается на область промотора до начала повторенных участков, отличающихся по длине и количеству между доминантными и рецессивными аллелями, а обратный праймер *Pp3\_Rd* – на 261-нуклеотидный повтор. Благодаря наличию усеченных фрагментов в 27 и 205 нуклеотидов ПЦР-продукты, получаемые с помощью разработанных праймеров, отличаются по длине у доминантного и рецессивного аллелей и составляют 398 и 429 пар нуклеотидов соответственно (рис. 1, *a*).

Праймеры внутригенного ПЦР-маркера *Pp1-diagnostic* фланкируют с двух сторон вариабельный по длине ДНК единственный интрон гена *Pp-B1*, что позволяет одновременно выявлять как доминантный аллель гена *Pp-B1*, так и рецессивные нефункциональные аллели *pp-A1* и *pp-B1* (см. рис. 1, *b*). Этот маркер создан с применением известных нуклеотидных последовательностей аллелей гена *Rc* (*red coleoptile*, синоним гена *Pp*), выделенных из пшеницы сорта Chinese Spring и фиолетовозерной изогенной линии сорта Новосибирская 67 (Himi, Taketa, 2015).

Диагностические праймеры ПЦР-маркера *Pp1-diagnostic* были сконструированы таким образом, что прямой праймер *Pp1\_Fd* отжигался с начала 1-го экзона как у функционального, так и у нефункционального аллеля, а обратный праймер *Pp1\_Rd* – на расстоянии 161 нуклеоти-

дов от начала 2-го экзона. За счет разницы длины участков интрона ПЦР-продукты, получаемые с помощью разработанных нами праймеров, отличались по длине между нефункциональным и функциональным аллелями и составляли 472 и 434 нуклеотида соответственно.

Рецессивные аллели *pp-B1* на хромосоме 7В по длине маркерных продуктов ПЦР не отличались от нефункциональных аллелей *pp-A1*. При этом для проведения ПЦР-анализа использовали стандартную ДНК-полимеразу; для разделения продуктов ПЦР применяли 2 % агарозный гель (LE Agarose, Lonza Rockland, Inc., Rockland, ME, США), приготовленный на TAE-буфере (40 мМ Трис-НСl pH 8.0, 20 мМ ацетат натрия, 1 мМ ЭДТА) с добавлением бромистого этидия.

Стандартом служил маркер длины фрагментов ДНК 100 bp (ООО «Лаборатория МЕДИГЕН», Россия). Электрофорез проводили в горизонтальной камере в течение 1–5 ч при напряжении 7 В/см. Визуализацию в УФ-свете и анализ изображений осуществляли с помощью системы документации гелей “Molecular Imager® Gel Doc™ XR+ System” (Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules, CA, США).

## Результаты

### Отбор гибридных родительских растений по глиадинкодирующим генам

Первоначально были исследованы родительские линии: *T. durum*, образец Tri15744, сорт Гремме, а также *T. dicoccum* к-25516, определены аллели ГКГ по каждому из локусов. Спектры родительских образцов отличались между собой, т. е. контролировались разными аллель-

**Таблица 3.** Характеристика гибридных растений полбы с твердой пшеницей по наследованию глиадинов от родительских форм

Растение	<i>Gli-A1</i> (хромосома A1S)	<i>Gli-B1</i> (хромосома B1S)	<i>Gli-A2</i> (хромосома A6S)	<i>Gli-B2</i> (хромосома B6S)
Гибрид 27-15/3	к-25516	к-25516	Греммэ	к-25516
Гибрид 27-15/4				
Гибрид 27-15/8*			к-25516	
Гибрид 27-15/10			Греммэ	
Гибрид 31-16/6	Tri15744		к-25516	Tri15744
Гибрид 31-19/3	к-25516		Греммэ	к-25516
Гибрид 31-19/4				
Гибрид 31-19/5				

\* Наследование аллелей всех четырех глиадинкодирующих локусов от полбы *T. dicoccum* к-25516.

ными вариантами глиадинкодирующих генов, и были гомогенны – каждый образец имел один спектр. При электрофоретическом анализе гибридного материала эти образцы использовались как эталоны, необходимые для точного определения принадлежности блока компонентов (аллельного варианта того или иного локуса) одному из трех родительских образцов.

Для генотипирования растений по ГКГ было отобрано по 10 растений из трех раннеспелых фиолетовозерных гибридных линий: линия 27-12, полуголозерная, все колосья обычные, безостые; линия 31-16, полуголозерная, колосья с рудиментарными остями вверху колоса; линия 31-19, полуголозерная, колосья с остистым верхом (Стёпочкин и др., 2023). От каждого растения анализировали по 3–5 зерен. Конечные результаты исследования представлены в табл. 3.

Мы не привели генетические формулы по глиадинам, так как твердая пшеница и полба имеют разные номенклатуры – разные каталоги блоков компонентов, в которых одними и теми же буквами обозначены разные блоки. Каталоги еще не сведены в единую систему, поэтому, чтобы быть абсолютно точными, по каждому локусу назван родитель, от которого унаследован тот или иной блок компонентов/аллельный вариант глиадинкодирующего локуса.

В первую очередь отбирались растения, наследующие глиадинкодирующие гены от полбы к-25516, а во вторую – от полбоида сорт Греммэ. Только одно гибридное растение, 27-15/8 (в табл. 3 выделено \* № 4), унаследовало все четыре глиадинкодирующих локуса от безостой полбы *T. dicoccum* к-25516. Гибридное растение 31-16/6 (№ 6 в настоящей работе) унаследовало локусы *Gli-B1* и *Gli-A2* от безостой полбы, а локусы *Gli-A1* и *Gli-B2* – от тетраплоидной пшеницы *T. durum* Tri15744. Растения линии 31-19 унаследовали три локуса (*Gli-A1*, *Gli-B1* и *Gli-B2*) от безостой полбы и один (*Gli-A2*) – от полбоида сорта Греммэ.

### Отбор по фенотипическим признакам

Помимо фиолетовой окраски перикарпа зерновок, у растений гибридных линий наблюдалось интенсивное окрашивание колеоптиля и стеблей (рис. 2).



**Рис. 2.** Фотография стеблей, колосков и зерновок родительских линий и раннеспелых гибридов, отобранных для возвратного скрещивания с сортом Греммэ.

1 – фиолетовозерная *T. durum* Tri15744; 2 – белозерный полбоид сорт Греммэ; 3 – краснозерная полба *T. dicoccum* к-25516; 4 – гибрид № 27-15/8 (родословная: Tri15744/Греммэ//\*2 к-25516); 6 – гибрид № 31-16/6 (Tri15744/Греммэ//к-25516).

По фенотипическим признакам растения линии 27-15/8 (№ 4 на рис. 2) были похожи на полбу к-25516 (№ 3) с длинными при созревании красными стеблями и безостыми красными колосьями. Плоские колоски содержали две темно-фиолетовые полупленчатые труднообмолачиваемые зерновки.

Низкорослые растения линии 31-16/3 (№ 6 на рис. 2) по фенотипическим признакам имели рудиментарные ости вверху компактных булавовидных ломких колосьев и почти голозерные.

Высокорослые тонкостебельные растения линии 31-19 по фенотипическим признакам имели рудиментарные ости вверху компактных булавовидных ломких колосьев и почти голозерные. Отрицательный признак – полегаемость

и не самое высокое значение содержания антоцианов в зерновках (39.7 мкг/г) в сравнении с донором *T. durum* Tri15744 (68.4 мкг/г) (Стёпочкин и др., 2023) не позволили нам продолжить работу с растениями данной линии.

Более позднеспелые белоколосые растения линии 27-3 в полевых условиях 2019 г. показали самый высокий процент содержания антоцианов в зерновках (82.5 мкг/г) (Стёпочкин и др., 2023) и были также выбраны для бек-кроссирования с высокоурожайным голозерным сортом Греммэ.

### Отбор по окраске колеоптиля

Предварительная фенотипическая (визуальная) оценка окраски колеоптиля у родительских растений показала, что проростки безостой полбы к-25516, как и тетраплоидной линии-донора *T. durum* Tri15744, обладали ярко выраженной антоциановой окраской колеоптиля, что соответствовало наличию в данных линиях доминантных аллелей гена *Pp-B1* (рис. S3). Белозерный сорт Греммэ имел слабоокрашенный колеоптиль, сходный с таковым у гексаплоидной пшеницы сорта Саратовская 29, связанной с присутствием доминантных аллелей гена *Pp-A1*, очень слабо влияющих на биосинтез антоцианов в зерновке (Gordeeva et al., 2015).

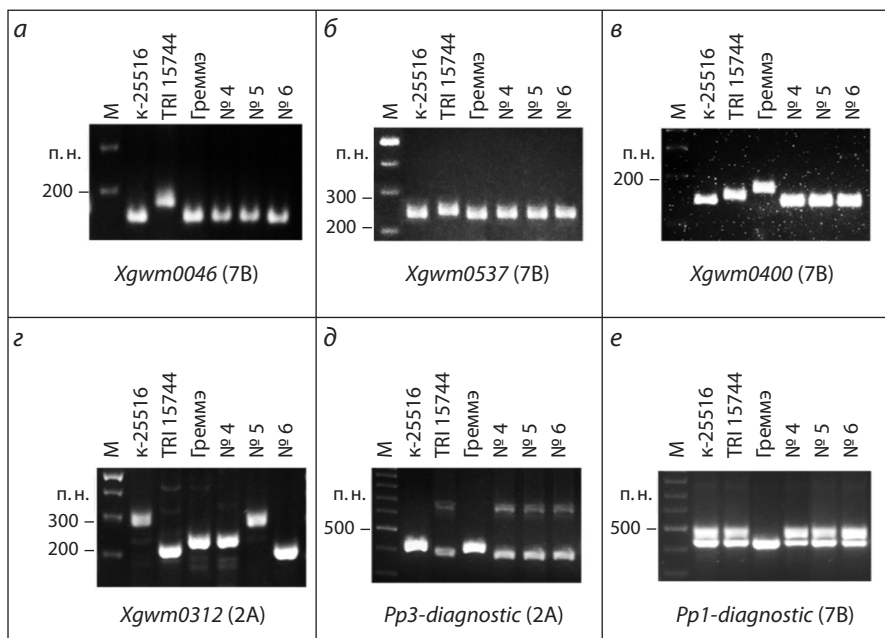
После прямого и обратного скрещивания пленчатых и полупленчатых пшенично-полбяных гибридов с остистым голозерным сортом Греммэ растения поколения F<sub>1</sub> самоопылялись. По 60 зерен от растений F<sub>1</sub> из каждой комбинации скрещивания замачивали для прорастания в чашках Петри. В поколении F<sub>2</sub> после скрещивания с

сортом Греммэ, несущим рецессивный аллель гена *Pp-B1* и, как следствие, не проявляющим яркую антоциановую окраску колеоптиля, первоначально была проведена визуальная оценка окраски проростков. После прорастания зерновок гибридов F<sub>2</sub> на 4–5-й дни для посадки в грунт отбраковали непроросшие зерна и проростки с бесцветным колеоптилем. Для посева отбирали только проростки с антоциановым цветом колеоптиля.

### Отбор с помощью молекулярных маркеров

У тетраплоидной пшеницы *T. durum* Tri15744 биосинтез антоцианов в перикарпе контролируется комплементарно взаимодействующими генами *Pp3* на хромосоме 2A и *Pp-A1/B1* – на хромосоме 7A или 7B.

Первоначально было проведено тестирование SSR-маркеров на ДНК, выделенной из листьев родительских образцов фиолетовозерных пшенично-полбяных гибридов. Микросателлитные маркеры *Xgwm0046* и *Xgwm0537*, близко расположенные к целевому гену *Pp-B1* на хромосоме 7B, не показали различий между продуктами ПЦР образцов полбы к-25516 с окрашенным колеоптилем и сорта Греммэ с неокрашенным колеоптилем, а, следовательно, разными аллелями *Pp-B1* – доминантным и рецессивным (рис. 3, а, б). По результатам ПЦР-анализа с полиморфным маркером *Xgwm0400* отобранные нами для скрещивания с сортом Греммэ все три гибридные линии (№ 4, 5, 6 в табл. 1) наследовали доминантные аллели *Pp-B1* только от полбы к-25516 (см. рис. 3, в). Для генотипирования ДНК гибридов в поколении F<sub>2</sub> нами был отобран полиморфный маркер *Xgwm0400*. И далее для более точного отбора фио-



**Рис. 3.** Электрофореграммы продуктов ПЦР, полученных с помощью микросателлитных маркеров, сцепленных с генами *Pp-B1* и *Pp-3* на хромосоме 7B и 2A соответственно, на 5 % агарозном геле (а–в). Электрофореграммы продуктов ПЦР, полученных с помощью внутригенных ПЦР-маркеров, к генам *Pp-3* и *Pp-B1* на хромосоме 2A и 7B соответственно, на 2 % агарозном геле (д, е).

№ 4, 5, 6 – продукты ДНК-гибридов, выбранных для скрещивания с сортом Греммэ; М – маркер длины.

**Таблица 4.** Анализ ДНК растений в F<sub>2</sub> от скрещивания гибридов с сортом Греммэ

Образец, №	Прямое скрещивание		Обратное скрещивание	
	Количество образцов в анализе	Гомозиготные образцы ( <i>Pp-B1*</i> + <i>Pp3</i> )	Количество образцов в анализе	Гомозиготные образцы ( <i>Pp-B1*</i> + <i>Pp3</i> )
4	24	0	14	2
5	18	0	14	0
6	13	2	18	1 (стерильное)
Всего		2		3

\* Маркером для выявления гомозиготных аллелей *Pp-B1* служил SSR-маркер *Xgwm400*.

**Таблица 5.** Анализ ДНК растений в F<sub>3</sub> от скрещивания гибридов с сортом Греммэ

Образец, №	Прямое скрещивание		Обратное скрещивание	
	Количество образцов в анализе	Гомозиготные образцы ( <i>Pp-B1*</i> + <i>Pp3</i> )	Количество образцов в анализе	Гомозиготные образцы ( <i>Pp-B1*</i> + <i>Pp3</i> )
4	42	6	47	5
5	53	5	28	5
6	63	11	20	3
Всего		22		13

\* Маркером для выявления гомозиготных аллелей *Pp-B1* служил *Pp1-diagnostic*.

летовозерных гибридов в поколении F<sub>3</sub> был использован внутригенный ПЦР-маркер *Pp1-diagnostic* (см. рис. 3, е).

Тестирование микросателлитного маркера *Xgwm0312*, сцепленного с геном *Pp3* на хромосоме 2А генома тетраплоидной пшеницы, выявило значительный полиморфизм и несоответствие между продуктами ПЦР фиолетовозерных родительских образцов и линии-донора функционального гена *Pp3 T. durum* Tri15744 (см. рис. 3, з). Поэтому отбор гомозиготных фиолетовозерных образцов гибридов в поколениях F<sub>2</sub> и F<sub>3</sub> проводили с помощью разработанного нами ранее полиморфного внутригенного ПЦР-маркера *Pp3-diagnostic* (см. рис. 3, д).

После оценки цвета колеоптиля и зерен растений поколения F<sub>2</sub> в трех парах комбинаций прямого и обратного скрещивания среди 113 проанализированных с помощью молекулярного анализа растений нам удалось отобрать пять фиолетовозерных образцов, содержащих одновременно два доминантных аллеля генов *Pp-B1* и *Pp3* (табл. 4). Из них зерна одного растения оказались нежизнеспособными.

Из 24 созревших растений F<sub>2</sub> от скрещивания гибрида № 4 с белозерным сортом Греммэ не нашли ни одного темно-фиолетовозерного растения, несущего гомозиготные маркеры сразу по двум функциональным генам, *Pp-B1* и *Pp3*, где продукты ПЦР соответствовали только № 4. Из 14 растений F<sub>2</sub> от обратного скрещивания сорта Греммэ с гибридом полбы № 4 нашли два растения с темно-фиолетовыми зернами, несущими гомозиготные маркеры сразу по двум функциональным генам, *Pp-B1* и *Pp3*. Данные растения (7 и 14) (рис. S4) имели рыхлые колосья с 5 и 2 зернами, посеянными для дальнейшего размножения.

Таким образом, в поколении F<sub>2</sub> в трех парах комбинаций прямого и обратного скрещивания с помощью молекулярного анализа нам удалось отобрать только два жизнеспособных растения с темно-фиолетовыми зернами,

гомозиготными сразу по двум доминантным генам, *Pp-B1* и *Pp3*, от скрещивания белозерного сорта Греммэ с гибридом полбы № 4 и два растения от скрещивания гибридов полбы № 6 с сортом Греммэ (см. табл. 4).

Для посадки поколения F<sub>3</sub> и дальнейшего анализа отобрали темно-фиолетовые зерна от растений, представляющих собой три группы:

- 1) с гомозиготными доминантными аллелями *Pp3* и гетерозиготными по SSR-маркеру *Xgwm400*, сцепленному с геном *Pp-B1*;
- 2) с доминантными аллелями *Pp3*, находящимися в гетерозиготном состоянии и гомозиготными по маркеру *Xgwm400*;
- 3) высокопродуктивные растения, гетерозиготные как по аллелям *Pp3*, так и по маркеру *Xgwm400*.

Для контроля и дальнейшего изучения были отобраны и высажены семена белозерного растения с рецессивными аллелями *Pp3* и гомозиготным доминантным SSR-маркером *Xgwm400*, сцепленным с геном *Pp-B1*, а также семена белозерного растения с гомозиготными доминантными аллелями *Pp3* и гомозиготным рецессивным SSR-маркером *Xgwm400*. Фенотипический и молекулярный анализ растений был продолжен в поколении F<sub>3</sub> (табл. 5).

В первой комбинации скрещивания гибрида полбы № 4 с сортом Греммэ из 42 гибридов с помощью внутригенных молекулярных маркеров *Pp3-diagnostic*, *Pp1-diagnostic* и SSR-маркера *Xgwm0400*, сцепленного с геном *Pp-B1*, было отобрано шесть темно-фиолетовозерных растений, гомозиготных по гену *Pp3*, несущих маркер доминантного функционального аллеля *Pp-B1* (продукты ПЦР соответствовали № 4) (рис. S5). Было замечено, что одно растение с темно-фиолетовыми зернами имело рецессивные продукты ПЦР SSR-маркера *Xgwm400*, сцепленного с геном *Pp-B1*, от сорта Греммэ, и доминантные продукты ПЦР

внутригенного маркера *Pp1-diagnostic* (см. рис. S5). Этот факт свидетельствует о неполном сцеплении микросателлитного маркера с целевым геном и о существовании горячей рекомбинационной точки, находящейся между геном *Pp-B1* и SSR-маркером *Xgwm400*.

В обратной комбинации скрещивания сорта Гремме с линией № 4 в F<sub>3</sub> по результатам фенотипического и молекулярного анализа из 47 гибридных образцов было отобрано 5 темно-фиолетовозерных растений, гомозиготных по гену *Pp3*, несущих маркер доминантного аллеля *Pp-B1* (продукты ПЦР соответствовали № 4). В данной комбинации скрещивания отмечено одно белозерное растение с гомозиготными доминантными аллелями *Pp3* и гомозиготное по SSR-маркеру *Xgwm400*, сцепленному с геном *Pp-B1*, однако не имеющее продукт ПЦР-маркера *Pp1-diagnostic*, соответствующего доминантному аллелю *Pp-B1* (продукты ПЦР, как у № 4). Это свидетельствует о произошедшей рекомбинации на участке хромосомы 7В между геном *Pp-B1* и SSR-маркером *Xgwm400*.

Таким образом, с помощью молекулярного анализа в поколении F<sub>3</sub> суммарно было отобрано 35 образцов темно-фиолетовозерных растений, гомозиготных по генам *Pp3* и содержащих доминантный аллель *Pp-B1* (см. табл. 5). Зерна от 29 продуктивных растений были высажены в открытом грунте и дали начало новым фиолетовозерным линиям. В поколении F<sub>4</sub> у 4 из 29 отобранных нами линий среди растений отмечено расщепление по признаку фиолетовой/белой окраски зерновок (в трех линиях семейства наследования от № 5, в одной линии – от № 6), что свидетельствовало о гетерозиготном состоянии доминантного аллеля гена *Pp-B1* у родительских образцов в поколении F<sub>3</sub>. Остальные 25 линий пшенично-полбяных гибридов были константными по признаку фиолетовой окраски зерновок, из которых семь линий имели жесткие колосковые чешуи и трудно обмолачивались. Полученные нами фиолетовозерные гибридные линии F<sub>4</sub>, посеянные в открытом грунте, были изучены по морфологическим и хозяйственно ценным признакам. Данные исследования выходят за рамки настоящей работы.

Время, затраченное на работы по скрещиванию растений и отбору соответствующих гибридов, составило два года: три тепличных вегетации и две вегетации в открытом грунте.

## Обсуждение

Обогащение генетического материала тетраплоидной пшеницы новыми уникальными характеристиками, связанными с накоплением антоцианов в зерновках и давно забытыми видами полбы с хозяйственно ценными свойствами, позволяет расширить производство и улучшить ассортимент полезных продуктов питания.

## Глиадинкодирующие гены

В настоящей работе изучались пшенично-полбяные гибриды, полученные ранее после насыщающих скрещиваний, с целью увеличения генетического материала полбы совместно с признаком голозерности.

Генотипирование гибридов в процессе получения селекционного материала проводили по генам (*Gli*) запасных белков зерна – глиадинам. Глиадины контролируются четырьмя основными несцепленными локусами на хромосомах 1- и 6-й гомеологической группы: *Gli-A1*, *Gli-A2*, *Gli-B1*, *Gli-B2*, на хромосомах 1А, 6А, 1В, 6В соответственно (Виниченко, Салина, 2021; Metakovsky et al., 2019). Каждый локус представляет собой кластер тесно сцепленных генов. Гены одного локуса кодируют полипептидные компоненты разного молекулярного веса и заряда. Компоненты, контролируемые одним аллелем, наследуются сцепленно, как единый менделевский признак, образуя полипептидный блок. Структура блока стабильна и не зависит от внешних или внутренних факторов.

Для глиадинкодирующих локусов выявлен множественный аллелизм – каждый локус контролирует более 20 аллелей, что позволяет теоретически идентифицировать более 1 млн генотипов. Фактически каждый сорт, каждая линия имеют свой уникальный электрофоретический спектр, контролируемый разными аллелями четырех глиадинкодирующих локусов (Кудрявцев и др., 2014; Новосельская-Драгович, 2015). Это позволяет идентифицировать генотипы и проследить наследование родительских аллелей в ряду поколений гибридов, определяя их принадлежность к определенным образцам по каждому локусу.

Генотипирование по глиадинкодирующим генам, благодаря уникальности родительских генотипов, дает возможность отобрать гибридное потомство, наследующее генотип определенного родителя, с характерным для него набором аллелей глиадинкодирующих локусов. Анализ аллельного состава глиадинкодирующих локусов у гибридных растений позволил определить, от какого родителя наследуются гены каждого глиадинкодирующего локуса, т.е. определить степень гибридности линий в процессе их создания.

С целью получения широкого спектра голозерных фиолетовозерных гибридов для скрещивания с голозерным полбоидом Гремме были отобраны контрастные линии гибридов, различающиеся по содержанию глиадинкодирующих генов. Одна из выбранных нами, пленчатая безостая линия № 4, наследовала все четыре локуса *Gli* от безостой полбы *T. dicoccum* к-25516. Почти голозерная низкоурожайная линия № 6 унаследовала два локуса, *Gli-B1* и *Gli-A2*, от безостой полбы к-25516 и два, *Gli-A1* и *Gli-B2*, – от тетраплоидной пшеницы *T. durum* Tri15744.

## Скрещивание и фенотипирование

Пирамидирование нескольких генов в одном генотипе растения – сложный процесс. Основной упор на данном этапе создания селекционного материала был сделан на получение растений с фиолетовой окраской зерновок.

Антоциановая пигментация у пшеницы регулируется двумя транскрипционными факторами. R2R3-Myb-подобный фактор, активирующий биосинтез антоцианов и в вегетативных органах (колеоптиле, стебле), и в перикарпе, кодируется функциональным аллелем гена *Pp-B1* (также известного как *Rc-1* или *Red coleoptile*) (Himi, Taketa, 2015).

Окраска колеоптиля проявляется, если хотя бы один из аллелей гена *Pp-B1* был доминантным (Khlestkina et al., 2008). Таким образом, для отбора растений, наследующих доминантные аллели *Pp-B1*, перед посевом в грунт использовали визуальный анализ проростков, из которых отбирали образцы только с окрашенным колеоптилем. Функциональный аллель гена *Pp3*, кодирующий второй регуляторный фактор Мус, имеет эндемичное происхождение от тетраплоидного вида *T. aethiopicum* (Zeven, 1991). Только при наличии в одном генотипе комплементарно взаимодействующих генов *Pp-B1* (или *Pp-D1*) и *Pp3* происходит биосинтез антоцианов в зерновках (Tereschenko et al., 2012). При несомненной пользе фенотипирования для селекции растений трудность заключается в том, что регуляторные гены *Pp* были доминантными, следовательно, способны проявлять окраску колеоптиля проростков и перикарпа зерновок как в гомозиготном, так и в гетерозиготном состоянии.

### Молекулярные маркеры

Для отбора растений, гомозиготных одновременно по двум доминантным аллелям генов *Pp3* и *Pp-B1*, имеющих стабильное фиолетовое окрашивание зерновок, использовали молекулярные ПЦР-маркеры.

Тестирование SSR-маркеров на ДНК родительских образцов фиолетовозерных пшенично-полбяных гибридов не продемонстрировало 100 % соответствия наследования связи продуктов ПЦР микросателлитов с генами *Pp*. Так, полиморфный микросателлитный маркер *Xgwm0312*, сцепленный с геном *Pp3* на хромосоме 2A, показал несоответствие между продуктами ПЦР фиолетовозерных родительских образцов и линии-донора функционального гена *Pp3 T. durum* Tri15744 (рис. 3, з). Поэтому для молекулярного анализа при отборе гомозиготных фиолетовозерных образцов гибридов успешно подошел разработанный нами ранее для гексаплоидной мягкой пшеницы полиморфный внутригенный ПЦР-маркер *Pp3-diagnostic* (см. рис. 3, д и рис. S4–S5). Это позволило безошибочно отобрать образцы растений, гомозиготные по доминантным аллелям генов *Pp3* в поколениях F<sub>2-3</sub>.

Тестирование с помощью полиморфного SSR-маркера *Xgwm0400* фиолетовозерных гибридных линий (№ 4, 5, 6), взятых нами для возвратных скрещиваний, выявило наследование участка хромосомы 7B и, следовательно, функциональных аллелей гена *Pp-B1* от ДНК красностебельной полбы к-25516 (№ 3, см. рис. 3, в). Этот маркер был применен для генотипирования ДНК гибридов в поколении F<sub>2</sub>. Однако, несмотря на близость данного маркера к изучаемому гену *Pp-B1*, надо учитывать случаи неполного сцепления, связанные с наличием горячей точки разрыва, находящейся между ними.

В отличие от SSR-маркеров *Xgwm0044* и *Xgwm0111* на хромосоме 7D, демонстрировавших надежное сцепление с локусом эквивалентного гена *Pp-D1* при селекции гексаплоидных фиолетовозерных пшениц (Gordeeva et al., 2020), вероятность сцепления маркера *Xgwm0400* с локусом гена *Pp-B1* была крайне низкой. Данный факт согласуется с работой E. Khlestkina с коллегами (2008), в

которой на инбредных рекомбинантных линиях выявлен короткий участок хромосомы 7B с целевым локусом *Rc-B1* (= *Pp-B1*), не имевшим в своем составе ни одного из близлежащих картированных SSR-маркеров.

Горячая точка разрыва между микросателлитным маркером *Xgwm0312* и локусом гена *Pp3* на хромосоме 2A в гибридных линиях, наследующих интрогрессию от дикого тетраплоидного вида *T. timopheevii* Zhuk., показана O.Y. Tereshchenko с коллегами (2012). Что, по-видимому, объясняется более широким спектром разнообразия генетического материала тетраплоидных пшениц, в отличие от окультуренных гексаплоидных сородичей. Поэтому для отбора гомозиготных фиолетовозерных образцов гибридов в поколении F<sub>3</sub> был использован разработанный нами ранее для гексаплоидной мягкой пшеницы полиморфный внутригенный маркер *Pp1-diagnostic* (см. рис. 3, е и рис. S5).

Поскольку рецессивные аллели *pp-B1* на хромосоме 7B по длине маркерных продуктов ПЦР не отличались от нефункциональных аллелей *pp-A1*, только после проверочного фенотипирования зерен от поколения F<sub>4</sub> были окончательно отобраны семейства растений, давшие начало новым фиолетовозерным линиям, гомозиготным одновременно по двум функциональным аллелям генов, *Pp3* и *Pp-B1*, со стабильными фиолетовоокрашенными антоцианами зерновками.

По литературным данным известно, что фиолетовозерные тетраплоидные твердые пшеницы *T. durum* Desf. выведены в Италии как нишевый продукт путем скрещивания коммерческого сорта твердой пшеницы Primadur (Blondur//2587-8-6/Leeds) и эфиопского сорта твердой пшеницы T1303 (P1352395) с фиолетовыми зернами (Fisco et al., 2014, 2018). Итальянскими учеными недавно также были разработаны молекулярные аллель-специфичные маркеры локусов генов *Pp-B1* и *Pp-A3* (*Pp3*) для маркер-ассоциированной селекции фиолетовозерной твердой пшеницы (Esposito et al., 2024). Маркеры были сконструированы на основе сравнительного анализа первичной ДНК генотипов фиолетовозерной пшеницы T1303 и местных желтозерных сортов твердой пшеницы Primadur и Svevo.

Аналогично результатам исследований, полученным на мягкой пшенице (Jiang et al., 2018), в промоторной области функционального доминантного аллеля *TdPpb1* (*Pp3*) на хромосоме 2A у фиолетовозерного T1303 обнаружено шесть tandemных повторов длиной 261 п. н., в то время как у Svevo был только один повтор. Размер продуктов ПЦР на ДНК, полученных от фиолетовозерной пшеницы, имел длину 3446 п. н., у желтозерных сортов – 2141 п. н.

Нефункциональный аллель *TdPpm1b* (*Pp-B1*) в геноме сортов Primadur и Svevo показал наличие большого участка инсерции размером примерно 1.6 тыс. п. о. на расстоянии 56 пар оснований от АТG, которая нарушила работу первого экзона. S. Esposito с коллегами (2024) подобрали праймеры, охватывающие эту инсерцию. Размер продуктов ПЦР, полученных на ДНК функциональных аллелей (*TdPpm1a*), у фиолетовозерных генотипов был длиной около 500 п. н., на ДНК нефункциональных алле-

лей (*TdPpm1b*) у местных желтозерных сортов и линий – 1800 п. н.

Разработанные нами внутригенные аллельспецифические маркеры *Pp1-diagnostic* и *Pp3-diagnostic* имеют более широкое применение и пригодны для диагностики как гексаплоидных, так и тетраплоидных видов пшениц. Праймеры, предложенные в статьях W. Jiang с коллегами (2018) и S. Esposito с коллегами (2024), амплифицируют продукты ПЦР большой длины, требующие для синтеза особую высокоэффективную полимеразу. Для наших маркеров подходит стандартная ДНК-полимераза.

Разработанные нами праймеры внутригенного ПЦР-маркера *Pp1-diagnostic* от начала первого экзона АТГ охватывают более длинный вариабельный по длине участок ДНК гена *Pp-1*. В то же время длинные ампликоны маркера *Pp1-diagnostic*, связанные с наличием длинной инсерции в белозерном сорте Гремме, нами не диагностировались. Интересно было бы протестировать по наличию данной вставки культурные сорта твердой пшеницы сибирской селекции.

Использование в работе тепличного комплекса в межсезонье позволило ускорить селекцию и получить гибриды поколения F<sub>4</sub> за два года (три тепличные и две полевые вегетации). Недостатком выращивания растений в теплице было наличие малых площадей для посева зерен. Это отразилось в двукратном молекулярном анализе и проведении отбора нужных гибридных растений в поколениях F<sub>2-4</sub>.

## Заключение

В настоящей работе после генотипирования по генам запасных белков зерновки, созданных ранее фиолетовозерных труднообмолачиваемых и малопродуктивных полбяных гибридов, и возвратного скрещивания с голозерным сортом Гремме получен набор трех семейств яровых голозерных и полуголозерных пшенично-полбяных фиолетовозерных растений, различающихся по глиадинкодирующим генам и другим качественным признакам.

Методом маркер-контролируемой селекции в поколении F<sub>4</sub> окончательно получено 25 линий пшенично-полбяных гибридов, различающихся по морфологическим признакам и константных по признаку фиолетовой антоциановой окраски зерновок, который проявляется при наличии гомозиготных функциональных аллелей генов *Pp-V1* и *Pp3* совместно в одном генотипе. Присутствие только одного функционального аллеля или гетерозиготность приводят к сегрегации по цвету зерна с дальнейшей потерей антоцианового пигмента.

Разработанные нами ранее на основе генома мягкой пшеницы внутригенные ПЦР-маркеры для генов *Pp-V1* и *Pp3* показали высокую эффективность. На небольших площадях выращивания применение *Pp3-diagnostic* позволило сразу точно определить гомозиготные генотипы тетраплоидных растений пшеницы, а применение *Pp1-diagnostic* потребовало последующей проверки окраски зерновок у потомков для отбора константных по цвету образцов. Данные маркеры являются полезным инструментом для дальнейших селекционных программ.

## Список литературы / References

- Василова Н.З., Асхадуллин Д.Ф., Асхадуллин Д., Багавиева Э.З., Тазутдинова М.Р., Хусаинова И.И. Фиолетовозерный сорт яровой мягкой пшеницы Надира. *Зернобобовые и крупяные культуры*. 2021;4(40):66-75. doi 10.24412/2309-348X-2021-4-66-75 [Vasilova N.Z., Askhadullin D.F., Askhadullin D., Bagavieva E.Z., Tazutdinova M.R., Khusainova I.I. Violet-green variety of spring soft wheat Nadira. *Zernobobovye i Krupyanye Kultury = Legumes and Groat Crops*. 2021;4(40):66-75. doi 10.24412/2309-348X-2021-4-66-75 (in Russian)]
- Виниченко Н.А., Салина Е.А. Глиадины: структура и токсичные эпитопы. *Письма в Вавилонский журнал генетики и селекции*. 2021;7(4):163-171. doi 10.18699/LettersVJ2021-7-21 [Vinichenko N.A., Salina E.A. Gliadins: structure and toxic epitopes. *Pisma v Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Lett Vavilov J Genet Breed*. 2021;7(4):163-171. doi 10.18699/LettersVJ2021-7-21 (in Russian)]
- Гилев С.Д., Цымбаленко И.Н., Копылов А.Н., Филиппова Е.А., Козлова Т.А. Полба – перспективная культура для органического земледелия. *Зерновое хозяйство России*. 2018;4:6-11. doi 10.31367/2079-8725-2018-58-4-6-11 [Gilev S.D., Tsymbalenko I.N., Kopylov A.N., Filippova E.A., Kozlova T.A. Emmer wheat is a promising grain crop for organic agriculture. *Zernovoye Khozyajstvo Rossii = Grain Economy of Russia*. 2018;4:6-11. doi 10.31367/2079-8725-2018-58-4-6-11 (in Russian)]
- Гордеева Е.И., Шоева О.Ю., Шаманин В.П., Хлесткина Е.К. Использование молекулярных маркеров в селекции мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) с различной антоциановой окраской зерновок. *Письма в Вавилонский журнал генетики и селекции*. 2023;9(2):86-99. doi 10.18699/LettersVJ-2023-9-11 [Gordeeva E.I., Shoeva O.Y., Shamanin V.P., Khlestkina E.K. The molecular markers applying in breeding of spring bread wheat (*Triticum aestivum* L.) lines with different anthocyanin coloration of the grains. *Pisma v Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Lett Vavilov J Genet Breed*. 2023;9(2):86-99. doi 10.18699/LettersVJ-2023-9-11 (in Russian)]
- Захарова И.И., Толстова Е.Г. Особенности контроля качества при производстве блюд из полбы. *Концепт*. 2019;4:238-246. doi 10.24411/2304-120X-2019-14028 [Zakharova I.I., Tolstova E.G. Features of quality control in the production of spelt dishes. *Kontsept = The Concept*. 2019;4:238-246. doi 10.24411/2304-120X-2019-14028 (in Russian)]
- Зверев С.В., Панкратьева И.А., Политуха О.В., Чиркова Л.В., Витол И.С., Стариченков А.А. Исследование свойств полбы. *Хлебопродукты*. 2016;1:66-67 [Zverev S.V., Pankratieva I.A., Politukha O.V., Chirkova L.V., Vitol I.S., Starichenkov A.A. Study of emmer properties. *Khleboproduktu = Grain Products*. 2016;1:66-67 (in Russian)]
- Кудрявцев А.М., Дедова Л.В., Мельник В.А., Шишкина А.А., Упельник В.П., Новосельская-Драгович А.Ю. Генетическое разнообразие современных российских сортов яровой и озимой твердой пшеницы по глиадинкодирующим локусам. *Генетика*. 2014;50(5):554-559. doi 10.7868/S0016675814050099 [Kudryavtsev A.M., Dedova L.V., Melnik V.A., Shishkina A.A., Upel'nik V.P., Novoselskaya-Dragovich A.Yu. Genetic diversity of modern Russian durum wheat cultivars at the gliadin-coding loci. *Russ J Genet*. 2014;50(5):483-488. doi 10.1134/S1022795414050093]
- Кузнецова Е.А., Учасов Д.С., Шаяпова Л.В., Кузнецова Е.А. Исследование состава и свойств зерна *Triticum dicoccum* (Schränk). *Все о мясе*. 2020;(S5):188-190. doi 10.21323/2071-2499-2020-5S-188-190 [Kuznetsova E.A., Uchasov D.S., Shayapova L.V., Kuznetsova E.A. Study of the composition and properties of *Triticum dicoccum* (Schränk) grain. *Vsyo o Myase*. 2020;(S5):188-190. doi 10.21323/2071-2499-2020-5S-188-190 (in Russian)]
- Лабораторный анализ белков семян пшеницы. Методическое пособие. М.: ООО Ваш формат, 2013

- [Laboratory Analysis of Wheat Seed Proteins: Instruction Manual. Moscow: Vash Format Publ., 2013 (in Russian)]
- Новосельская-Драгович А.Ю. Генетика и геномика пшеницы: запасные белки, экологическая пластичность и иммунитет. *Генетика*. 2015;51(5):568-583. doi 10.7868/S0016675815050045
- [Novoselskaya-Dragovich A.Y. Genetics and genomics of wheat: storage proteins, ecological plasticity, and immunity. *Russ J Genet*. 2015;51(5):476-490. doi 10.1134/S102279541505004X]
- Рубец В.С., Ворончихина И.Н., Игонин В.Н., Сидоренко В.С., Ворончихин В.В. Характеристика фиолетовозерных сортов яровой мягкой пшеницы в условиях центрального района Нечерноземной зоны России. *Международный сельскохозяйственный журнал*. 2022;5:525-529. doi 10.55186/25876740\_2022\_65\_5\_525
- [Rubets V.S., Voronchikhina I.N., Igonin V.N., Sidorenko V.S., Voronchikhin V.V. Characteristics of violet-green variety of spring soft wheat in the conditions of the central region of the Non-Chernozem Zone of Russia. *Mezhdunarodnyi Sel'skokhozyaistvennyi Zhurnal*. 2022;5:525-529. doi 10.55186/25876740\_2022\_65\_5\_525 (in Russian)]
- Смекалова Т.Н., Кобылянский В.Д. Новый подвид пшеницы *Triticum dicoccon* (Schrank) Schuebl. subsp. *nudicoccon* Kobyl. et Smekal. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2019;180(4):148-151. doi 10.30901/2227-8834-2019-4-148-151
- [Smekalova T.N., Kobylansky V.D. A new subspecies of wheat: *Triticum dicoccon* (Schrank) Schuebl. subsp. *nudicoccon* Kobyl. et Smekal. *Trudy po Prikladnoi Botanike, Genetike i Selekcii = Proc Appl Bot Genet Breed*. 2019;180(4):148-151. doi 10.30901/2227-8834-2019-4-148-151 (in Russian)]
- Стёпочкин П.И., Гордеева Е.И., Хлесткина Е.К. Маркер-ориентированная селекция в создании гибридных линий *Triticum dicoccon* (Schrank) Schuebl. × *Triticum aethiopicum* Jakubz. с фиолетовоокрашенным зерном. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2023;184(2):139-148. doi 10.30901/2227-8834-2023-2-1-10
- [Stepochkin P.I., Gordeeva E.I., Khlestkina E.K. Marker-assisted breeding of hybrid lines of *Triticum dicoccon* (Schrank) Schuebl. × *Triticum aethiopicum* Jakubz. with purple grain. *Trudy po Prikladnoi Botanike, Genetike i Selekcii = Proc Appl Bot Genet Breed*. 2023;184(2):139-148. doi 10.30901/2227-8834-2023-2-1-10 (in Russian)]
- Темирбекова С.К., Бегулов М.Ш., Афанасьева Ю.В., Куликов И.М., Ионова Н.Э. Адаптивный потенциал полбы голозерной в условиях второго, третьего и седьмого регионов Российской Федерации. *Вестник российской сельскохозяйственной науки*. 2020;1:34-38. doi 10.30850/vrsn/2020/1/34-38
- [Temirbekova S.K., Begeulov M.Sh., Afanas'eva Yu.V., Kulikov I.M., Ionova N.E. Adaptive capacity of einkorn huskless in the second, third and seventh Russian Federation regions. *Vestnik Rossijskoi Sel'skokhozyaistvennoi Nauki = Vestn Russ Agric Sci*. 2020;1:34-38. doi 10.30850/vrsn/2020/1/34-38 (in Russian)]
- Темирбекова С.К., Бегулов М.Ш., Байда И.Д., Зверев С.В., Политуха О.В. Технологические свойства зерна новых сортов древних видов пшеницы. *Аграрная наука*. 2024;11:157-163. doi 10.32634/0869-8155-2024-388-11-157-163
- [Temirbekova S.K., Begeulov M.Sh., Baida I.D., Zverev S.V., Politukha O.V. Technological properties of grain of new varieties of ancient wheat species. *Agrarnaya Nauka = Agrarian Science*. 2024;11:157-163. doi 10.32634/0869-8155-2024-388-11-157-163 (in Russian)]
- Фисенко А.В., Калмыкова Л.П., Кузнецова Н.Л., Кузьмина Н.П., Ермоленко О.И., Упельник В.П. Селекция фиолетовозерной мягкой пшеницы и ее технологические свойства. *Аграрная Россия*. 2020;10:43-48. doi 10.30906/1999-5636-2020-10-43-48
- [Fisenko A.V., Kalmykova L.P., Kuznetsova N.L., Kuzmina N.P., Ermolenko O.I., Upel'nik V.P. Selection of purple-grain common wheat and its technological properties. *Agrarnaya Rossiya*. 2020;10:43-48. doi 10.30906/1999-5636-2020-10-43-48 (in Russian)]
- Шаманин В.П., Потоцкая И.В., Чурсин А.С., Шепелев С.С., Нардин Д.С., Пожерукова В.Е., Кёксель Х., Моргунов А.И. Селекция яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) с функциональными свойствами зерна для экологически безопасного выращивания в Западной Сибири. *Сельскохозяйственная биология*. 2024;59(3):492-506. doi 10.15389/agrobiol.2024.3.492rus
- [Shamanin V.P., Pototskaya I.V., Chursin A.S., Shepelev S.S., Nardin D.S., Pozherukova V.E., Köksel H., Morgounov A.I. Breeding spring bread wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties with functional properties of grain for environmentally friendly growing in Western Siberia. *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya = Agricultural Biology*. 2024;59(3):492-506. doi 10.15389/agrobiol.2024.3.492eng]
- Шоева О.Ю., Гордеева Е.И., Хлесткина Е.К. Внутригенный ДНК-маркер для отбора пшеницы с повышенным содержанием антоцианов в перикарпе зерновки. *Патент RU2774444C1*. 2022
- [Shoeva O.Yu., Gordeeva E.I., Khlestkina E.K. Intragenic DNA marker for the selection of wheat with a high content of anthocyanins in the grain pericarp. *Patent RU2774444C1*. 2022 (in Russian)]
- Badaeva E.D., Keilwagen J., Knüpfer H., Waßermann L., Dedkova O.S., Mitrofanova O.P., Kovaleva O.N., Liapunova O.A., Pukhalskiy V.A., Özkan H., Graner A., Willcox G., Kilian B. Chromosomal passports provide new insights into diffusion of emmer wheat. *PLoS One*. 2015;10(5):e0128556. doi 10.1371/journal.pone.0128556
- Biradar S.S., Yashavanthakumar K.J., Navathe S., Reddy U.G., Bavisakar V.S., Gopalareddy K., Lamani K., Desai S.A. Dicocum wheat: current status and future perspectives. In: *New Horizons in Wheat and Barley Research*. Singapore: Springer, 2022;531-563. doi 10.1007/978-981-16-4449-8\_21
- Cabas-Lühmann P., Arriagada O., Matus I., Marcotuli I., Gadaleta A., Schwember A.R. Comparison of durum with ancient tetraploid wheats from an agronomical, chemical, nutritional, and genetic standpoints: a review. *Euphytica*. 2023;219(6):61. doi 10.1007/s10681-023-03188-z
- Dwivedi S.L., Mattoo A.K., Garg M., Dutt S., Singh B., Ortiz R. Developing germplasm and promoting consumption of anthocyanin-rich grains for health benefits. *Front Sustain Food Syst*. 2022;6:867897. doi 10.3389/fsufs.2022.867897
- Espósito S., Palombieri S., Vitale P., Angione G., D'Attilia C., Taranto F., Sestili F., De Vita P. Identification and development of functional markers for purple grain genes in durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *Theor Appl Genet*. 2024;137:256. doi 10.1007/s00122-024-04755-1
- Ficco D.B., Mastrangelo A.M., Trono D., Borrelli G.M., De Vita P., Fares C., Beleggia R., Platani C., Papa R. The colours of durum wheat: a review. *Crop Pasture Sci*. 2014;65(1):1-15. doi 10.1071/CP13293
- Ficco D.B.M., Borrelli G.M., Giovanniello V., Platani C., De Vita P. Production of anthocyanin-enriched flours of durum and soft pigmented wheats by air-classification, as a potential ingredient for functional bread. *J Cereal Sci*. 2018;79:118-126. doi 10.1016/j.jcs.2017.09.007
- Geyik Ö.G., Tekin-Cakmak Z.H., Shamanin V.P., Karasu S., Pototskaya I.V., Shepelev S.S., Chursin A.S., Morgounov A.I., Yaman M., Sagdic O., Köksel H. Effects of phenolic compounds of colored wheats on colorectal cancer cell lines. *Qual Assur Saf Crops Food*. 2023;15(4):21-31. doi 10.15586/qas.v15i4.1354
- 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
- Gordeeva E., Shamanin V., Shoeva O., Kukoeva T., Morgounov A., Khlestkina E. The strategy for marker-assisted breeding of anthocyanin-rich spring bread wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars in Western Siberia. *Agronomy*. 2020;10(10):1603. doi 10.3390/agronomy10101603
- Himi E., Taketa S. Isolation of candidate genes for the barley *Ant1* and wheat *Rc* genes controlling anthocyanin pigmentation in different

- vegetative tissues. *Mol Genet Genomics*. 2015;290(4):1287-1298. doi 10.1007/s00438-015-0991-0
- Jiang W., Liu T., Nan W., Jeewani D.C., Niu Y., Li C., Wang Y., Shi X., Wang C., Wang J., Li Y., Gao X., Wang Z. Two transcription factors *TaPpm1* and *TaPpb1* co-regulate anthocyanin biosynthesis in purple pericarps of wheat. *J Exp Bot*. 2018;69(10):2555-2567. doi 10.1093/jxb/ery101
- Khlestkina E.K., Röder M.S., Salina E.A. Relationship between homeologous regulatory and structural genes in allopolyploid genome – a case study in bread wheat. *BMC Plant Biol*. 2008;8(1):88. doi 10.1186/1471-2229-8-88
- Khlestkina E.K., Röder M.S., Börner A. Mapping genes controlling anthocyanin pigmentation on the glume and pericarp in tetraploid wheat (*Triticum durum* L.). *Euphytica*. 2010;171(1):65-69. doi 10.1007/s10681-009-9994-4
- 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
- Melnikova N.V., Kudryavtseva A.V., Kudryavtsev A.M. Catalogue of alleles of gliadin coding loci in durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *Biochimie*. 2012;94(2):551-557. doi 10.1016/j.biochi.2011.09.004
- Metakovsky E., Melnik V.A., Pascual L., Wrigley C.W. Gliadin genotypes worldwide for spring wheats (*Triticum aestivum* L.) 2. Strong differentiation of polymorphism between countries and regions of origin. *J Cereal Sci*. 2019;87(6):311-317. doi 10.1016/j.jcs.2019.04.015
- Mohammadi N., Farrell M., O'Sullivan L., Langan A., Franchin M., Azevedo L., Granato D. Effectiveness of anthocyanin-containing foods and nutraceuticals in mitigating oxidative stress, inflammation, and cardiovascular health-related biomarkers: a systematic review of animal and human interventions. *Food Funct*. 2024;15(7):3274-3299. doi 10.1039/D3FO04579J
- Plaschke J., Ganal M.W., Röder M.S. Detection of genetic diversity in closely related bread wheat using microsatellite markers. *Theor Appl Genet*. 1995;91:1001-1007. doi 10.1007/BF00223912
- Röder M.S., Korzun V., Wendehake K., Plaschke J., Tixier M.H., Leroy P., Ganal M.W. A microsatellite map of wheat. *Genetics*. 1998;149:2007-2023. doi 10.1093/genetics/149.4.2007
- Şahin Y., Karakas F.P. Chemical composition of einkorn (*Triticum monococcum* ssp. *monococcum*), emmer (*Triticum dicoccum*), and spelt (*Triticum spelta*). In: Ancient Wheats. Cham: Springer, 2022; 119-145. doi 10.1007/978-3-031-07285-7\_6
- 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
- Tikhonova M., Shoeva O., Tenditnik M., Ovsyukova M., Akopyan A., Dubrovina N., Amstislavskaya T.G., Khlestkina E. Evaluating the effects of grain of isogenic wheat lines differing in the content of anthocyanins in mouse models of neurodegenerative disorders. *Nutrients*. 2020;12:3877. doi 10.3390/nu12123877
- Tikhonova M.A., Shoeva O.Y., Tenditnik M.V., Akopyan A.A., Litvinova E.A., Popova N.A., Amstislavskaya T.G., Khlestkina E.K. Antitumor effects of an anthocyanin-rich grain diet in a mouse model of lewis lung carcinoma. *Int J Mol Sci*. 2024;25:5727. doi 10.3390/ijms25115727
- Zeven A.C. Wheats with purple and blue grains: a review. *Euphytica*. 1991;56(3):243-258. doi 10.1007/bf00042371

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 20.10.2025. После доработки 20.02.2026. Принята к публикации 20.02.2026.