

ВЛИЯНИЕ ГАММА-ОБЛУЧЕНИЯ ЖЕНСКОГО ГАМЕТОФИТА В КАСТРИРОВАННЫХ РАСТЕНИЯХ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ НА РАЗРАСТАНИЕ ЗАВЯЗЕЙ ПРИ СКРЕЩИВАНИИ С КУКУРУЗОЙ

Е. В. Бондаренко¹, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, bev_1408@mail.ru, ORCID ID: 0000-0002-7937-3824;

И. Ф. Лапочкина², доктор биологических наук, главный научный сотрудник, inna-lapochkina@yandex.ru, ORCID ID: 0000-0002-2328-2798;

И. А. Пишенин¹, научный сотрудник, pishenin.ivan@gmail.com, ORCID ID: 0000-0002-2633-9251;

И. Ю. Макарова², кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, makarovairinaj@yandex.ru, ORCID ID: 0009-0001-9711-2601;

Н. А. Яшина², кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник, yashina-nat@yandex.ru, ORCID ID: 0009-0003-7466-5822;

А. С. Смирнова¹, младший научный сотрудник, sas.smirnova@mail.ru, ORCID ID: 0009-0006-1263-9188;

Е. А. Казакова¹, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, alvaly@mail.ru, ORCID ID: 0000-0002-2975-5891;

Я. А. Блинова¹, младший научный сотрудник, yana.manuhina@yandex.ru, ORCID ID: 0000-0002-3670-5876;

А. А. Празян¹, научный сотрудник, prazyana@yahoo.com, ORCID ID: 0000-0002-7908-1928;

П. Ю. Волкова³, доктор биологических наук, независимый исследователь, volkova.obninsk@gmail.com, ORCID ID: 0000-0003-2824-6232

¹ФГБУ «Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», 249035, Калужская область, г. Обнинск, Киевское шоссе, д. 1; e-mail: rirae70@yandex.ru;

²ФИЦ «Немчиновка»,

143026, Московская обл., р.п. Новоивановское, ул. Агрохимиков, д. 6; e-mail: mosniish@yandex.ru;

³Бельгия, 2440, провинция Антверпен, г. Гел, ул. Бюргстраат, д. 46-3.

В течение 5 лет была проведена серия опытов по использованию γ -облучения женского гаметофита яровой мягкой пшеницы перед отдаленной гибридизацией с кукурузой с целью изучения влияния изменяющегося при облучении в различных дозах гормонального фона растений на разрастание завязей после опыления кукурузой. Установлены оптимальные сроки проведения работ по кастрации, облучению и опылению пылью кукурузы. Сделан вывод о необходимости проведения таких опытов в контролируемых условиях климокамеры, чтобы избежать дополнительных стрессов в период оплодотворения и развития зародыша. При γ -облучении в диапазоне доз от 3 до 15 Гр отмечены наилучшие результаты разрастания завязей (7,89–11,30 % разросшихся завязей). Установлено изменение уровня различных фитогормонов и возможное влияние этих изменений на завязываемость и рост завязей – потенциальных источников гаплоидных и апомиктично развитых генотипов. Отмечено, что для вариантов с наилучшими показателями разросшихся завязей характерно повышение значений соотношений салициловая кислота / индол-3-уксусная кислота и салициловая кислота / абсцизовая кислота по отношению к этим же значениям до облучения.

Ключевые слова: мягкая пшеница, кукуруза, гамма-облучение, фитогормоны, женский гаметофит, завязи.

Для цитирования: Бондаренко Е. В., Лапочкина И. Ф., Пишенин И. А., Макарова И. Ю., Яшина Н. А., Смирнова А. С., Казакова Е. А., Блинова Я. А., Празян А. А., Волкова П. Ю. Влияние гамма-облучения женского гаметофита в кастрированных растениях яровой мягкой пшеницы на разрастание завязей при скрещивании с кукурузой // Зерновое хозяйство России. 2024. Т. 16, № 4. С. 50–59. DOI: 10.31367/2079-8725-2024-93-4-50-59.



GAMMA IRRADIATION EFFECT OF FEMALE GAMETOPHYTE IN EMASCULATED SPRING BREAD WHEAT PLANTS ON OVARIES' GROWTH WHEN CROSSED WITH MAIZE

E. V. Bondarenko¹, Candidate of Biological Sciences, leading researcher, bev_1408@mail.ru, ORCID ID: 0000-0002-7937-3824;

I. F. Lapochkina², Doctor of Biological Sciences, main researcher, inna-lapochkina@yandex.ru, ORCID ID: 0000-0002-2328-2798;

I. A. Pishenin¹, researcher, pishenin.ivan@gmail.com, ORCID ID: 0000-0002-2633-9251;

I. Yu. Makarova², Candidate of Biological Sciences, leading researcher, makarovairinaj@yandex.ru, ORCID ID: 0009-0001-9711-2601;

N. A. Yashina², Candidate of Agricultural Sciences, senior researcher, yashina-nat@yandex.ru, ORCID ID: 0009-0003-7466-5822;

A. S. Smirnova¹, junior researcher, sas.smirnova@mail.ru, ORCID ID: 0009-0006-1263-9188

E. A. Kazakova¹, Candidate of Biological Sciences, senior researcher, alvaly@mail.ru, ORCID ID: 0000-0002-2975-5891;

Ya. A. Blinova¹, junior researcher, yana.manuhina@yandex.ru, ORCID ID: 0000-0002-3670-5876;

A. A. Prazyan¹, researcher, prazyana@yahoo.com, ORCID ID: 0000-0002-7908-1928;

P. Yu. Volkova³, Doctor of Biological Sciences, independent researcher, volkova.obninsk@gmail.com, ORCID ID: 0000-0003-2824-6232

¹Federal State Budgetary Institution "All-Russian Research Institute of Radiology and Agroecology of the National Research Center "Kurchatov Institute",

249035, Kaluga region, Obninsk, Kievskoe Sh., 1/1; e-mail: rirae70@yandex.ru;

²FSBSI "Federal Research Center "Nemchinovka" (FRC "Nemchinovka"),

143026, Russia, Moscow region, Odintsovsky region, Odintsovsky district, v. of Novoivanovskoe, Agrokhimikov Str., 6; e-mail: mosniish@yandex.ru;

³Belgium, 2440, province of Antwerp, Gel, Burgstraat St., 46–3

Over a period of 5 years, there was conducted a series of trials on the use of γ -irradiation of the female gametophyte of spring common wheat before remote hybridization with maize to study the effect of the phytohormonal changes during irradiation at various doses on ovaries' growth after pollination with maize. Optimal timing of work on castration, irradiation, and pollination with maize pollen were established. It has been concluded that it is necessary to conduct such experiments in controlled conditions of a climatic chamber to avoid additional stress during fertilization and development of an embryo. The best results in ovaries' growth were obtained (7.89–11.30 % of developed ovaries) with γ -irradiation in the dose from 3 to 15 Gy. There have been found changes in the level of various phytohormones and the possible influence of these changes on ovaries' setting and growth, as potential sources of haploid and apomictically developed genotypes. The variants with the best indicators of developed ovaries are characterized by an increase in the ratio values of the salicylic acid/indole-3-acetic acid and salicylic acid/abscisic acid in relation to the same values before irradiation.

Keywords: common wheat, maize, gamma irradiation, phytohormones, female gametophyte, ovaries.

Введение. Получение гаплоидов может способствовать ускорению процессов создания константного материала и новых сортов сельскохозяйственных культур. Одним из подходов получения гаплоидов у *Triticum aestivum* является отдаленная гибридизация с кукурузой (*Zea mays* L.), декоративным просо (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.), луковичным ячменем (*Hordeum bulbosum* L.) или сорго (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) с последующей селективной элиминацией хромосом опылителя. При скрещивании мягкой пшеницы с кукурузой возникновение гаплоидных зародышей происходит с частотой от 4,5 до 20,0 % от числа опыленных цветков (Дьячук и др., 2019). Однако в течение ряда лет в ФИЦ «Немчиновка» остаются неэффективными эксперименты по созданию гаплоидов мягкой пшеницы при опылении пылью кукурузы, в связи с чем возникла необходимость в поиске новых подходов к получению гаплоидов с использованием отдаленной гибридизации (Воронов и др., 2023).

Изучение развития гаплоидных зародышей овса показало, что морфоанатомические модификации гаплоидных эмбрионов сопровождались крайне низким уровнем эндогенных ауксинов, более высоким по сравнению с зиготными эмбрионами содержанием цитокининов, десятикратным увеличением соотношения цитокининов и ауксинов, а также более высокими значениями отдельных гиббереллинов в одном из двух исследованных сортов (Dziurka et al., 2022). Сравнение фитогормональных профилей в завязях овса с зародышем и без показало значительно более высокое суммарное содержание индол-3-уксусной кислоты, зеатина и кинетина в завязях с зародышами и отсутствие различий в концентрации гиббереллинов и стресс-гормонов (абсцизовая, салициловая, жасмоновая кислоты) (Dziurka et al., 2019). Учитывая, что разви-

тие растений регулируется фитогормонами, а стрессовые воздействия приводят к изменениям гормонального баланса (Wani et al., 2016; Roychoudhury and Aftab, 2021), было решено применить в качестве стрессового фактора ионизирующее излучение. Таким образом, с целью изменения гормонального фона в сторону, наиболее благоприятную для оплодотворения и получения гаплоидов, женский гаметофит мягкой пшеницы был подвергнут γ -облучению (Воронов и др., 2023).

В работе Битаршвили с соавторами было исследовано влияние γ -облучения семян ячменя сорта Нур в широком диапазоне доз (4–50 Гр) на содержание эндогенных фитогормонов: индолилуксусной кислоты, индолилмасляной кислоты, зеатина, абсцизовой кислоты и их соотношения в динамике прорастания с третьего по седьмой день и показано, что облучение в дозе 50 Гр приводило к увеличению содержания абсцизовой кислоты при уменьшении концентраций остальных гормонов. Облучение в дозах 4–20 Гр меняло соотношение фитогормонов за счет снижения уровня абсцизовой кислоты и увеличения содержания индолилуксусной и индолилмасляной кислот и зеатина (Битаршвили и др. 2018).

Таким образом, цель исследований заключается в оценке влияния γ -облучения женского гаметофита на содержание основных фитогормонов и на разрастание завязей мягкой пшеницы после опыления пылью кукурузы. Основными фитогормонами были выбраны ауксины индол-3-уксусная и индолилмасляная кислоты, цитокинин зеатин, гибберелловая кислота, антагонист гибберелловой кислоты и гормон, контролирующий адаптивные реакции на стресс – абсцизовая кислота и защитный фитогормон – салициловая кислота.

Материалы и методы исследований. В качестве объекта исследования использо-

вали сорт Родина яровой мягкой пшеницы. Растения выращивали в вегетационных сосудах: зимой 2019/2020 г. в теплице при искусственном освещении, а в 2020–2023 гг. весной и летом на стеллажах при естественной инсоляции и температурах. Для совпадения сроков цветения пшеницы и кукурузы семена кукурузы высевали также в сосудах, но в более ранние сроки (на 30 дней раньше пшеницы). Кастрацию колосьев проводили в максимально короткие сроки (за 2–6 дней в зависимости от числа растений и времени их выколашивания). После удаления всех пыльников из цветков каждый колос помещали в пергаментный изолятор, на котором фиксировалась дата кастрации, число прокастрированных цветков и в дальнейшем – дата опыления (Воронов и др., 2023).

На следующий день после окончания кастрации растения подвергались γ -облучению на уникальной научной установке ГУР-120 (источник – ^{60}Co , НИЦ «Курчатовский институт» – ВНИИРАЭ) в дозах 1–30 Гр с мощностью дозы 60 Гр/час. Перед и сразу после облучения образцы молодых листьев кастрированных растений одного сосуда (3–5 образцов на экспериментальное условие) фиксировались в жидком азоте для определения содержания основных фитогормонов: индол-3-уксусной кислоты (IAA), индолилмасляной кислоты (IBA), гибберелловой кислоты (GA), зеатина (Zeatin), абсцизовой кислоты (ABA) и салициловой кислоты (SA). После облучения проводили принудительное опыление зрелой пылью кукурузы, оставляя в каждом цветке по пылящему пыльнику. Учет разросшихся завязей проводили на седьмой–десятый день после опыления. В эксперименте 2022 г. на двадцатый день после опыления провели вторичный подсчет завязей.

Качественное и количественное определение фитогормонов проводили на высокоэффективном жидкостном хроматографе Shimadzu LC-30 Nexera (Япония) с диодно-матричным детектором SPD-M20A (Shimadzu, Япония). Полученные данные обрабатывали с помощью LabSolutions (Shimadzu, Япония).

Статистическую значимость различий до и после облучения оценивали с помощью критерия Уилкоксона для связанных выборок (Wilcoxon signed-rank test) после подтверждения необходимости применения непараметрических подходов при выполнении теста Шапиро–Уилка (R версия 4.3.3 от 2024-02-29). Для корреляционного анализа был использован метод ранговой корреляции Спирмена.

Разница содержания гормонов в растениях рассчитана по формуле (1):

$$\frac{\text{обл.} - \text{конт.}}{\text{конт.} \times 100 \%} \quad (1)$$

где обл. – содержание гормона в образце после облучения, мг/г; конт. – содержание гормона в образце до облучения, мг/г.

Результаты и их обсуждение. Зимой 2019/2020 г. провели пилотный эксперимент, облучив колосья в дозах 15, 20 и 25 Гр. При выборе доз учитывали, что женский гаметофит более устойчив к облучению, чем мужской (Pienaar et al., 1973). Небольшая выборка из 40 растений позволила за два дня провести кастрацию, облучить растения на четвертый день, опылить цветки на девятый день после кастрации и оценить разрастание завязей на седьмой день после опыления (табл. 1). Все процедуры были проведены в короткий шестнадцатидневный срок (Воронов и др., 2023).

Таблица 1. Доля разросшихся завязей и сдвиги в концентрациях фитогормонов в кастрированных растениях яровой мягкой пшеницы после облучения женского гаметофита и опыления пылью кукурузы (2019–2023 гг.)
Table 1. The proportion of developed ovaries and shifts in the concentrations of phytohormones in emasculated spring bread wheat plants after irradiation of the female gametophyte and pollination with maize pollen (2019–2023)

Доза, Гр	Число растений	Число кастрированных цветков	Разросшиеся завязи		Изменения гормонального фона к контролю до облучения
зима 2019–2020, теплица (&)					
15	12	222	25 шт.	11,3 %	< IAA, IBA, > SA
20	16	290	9 шт.	3,1 %	< ABA, > SA, GA
25	12	258	8 шт.	3,4 %	< IAA, IBA, ABA, > SA
2020 г., сосуды, естественная инсоляция					
5	30	784	4 шт.	0,51 %	> Zeatin
10	22	584	0 шт.	0 %	
15	23	633	2 шт.	0,31 %	> ABA, IAA, IBA, GA, SA
20	25	648	0 шт.	0 %	
25	29	756	0 шт.	0 %	
контроль без облучения	19	526	0 шт.	0 %	
2021 г., сосуды, естественная инсоляция					
5	31	662	56 шт.	8,45 %	> IAA
10	30	645	59 шт.	9,15 %	> SA, Zeatin
15	26	663	11 шт.	1,66 %	> SA
30	19	578	20 шт.	3,46 %	> IAA
контроль без облучения	30	432	17 шт.	3,94 %	

Продолжение табл. 1

Доза, Гр	Число растений	Число кастрированных цветков	Разросшиеся завязи				Изменения гормонального фона к контролю до облучения
2022 г., сосуды, естественная инсоляция							
			на 7-8-й дни после опыления		на 20-й день после опыления		
5	31	1003	14 шт.	1,39 %	24 шт.	2,39 %	> ABA*, SA*
10	23	988	12 шт.	1,56 %	16 шт.	1,61 %	< GA, IBA, zeatin
15	28	1065	10 шт.	0,93 %	20 шт.	1,87 %	< ABA*, IBA*, SA*
30	25	873	8 шт.	0,91 %	14 шт.	1,60 %	> SA*
Контроль без облучения	14	415	0 шт.	0 %	0 шт.	0 %	
2023 г., сосуды, естественная инсоляция							
1	21	644	15 шт.		2,33 %		> GA, < Zeatin
2	24	731	27 шт.		3,69 %		< IAA#, IBA#
3	19	532	42 шт.		7,89 %		< IAA, > IBA
5	25	736	43 шт.		5,84 %		< IAA#, > IBA#, GA
Контроль без облучения	10	253	9 шт.		3,55 %		

Примечания. & – Ограниченная выборка не позволила провести статистическую обработку данных.

< – уменьшение содержания после облучения; > – увеличение содержания после облучения.

* – статистически значимые изменения, по отношению к концентрации в этих же растениях до облучения ($p \leq 0,05$ по Wilcoxon signed-rank test).

– изменения по отношению к концентрации в этих же растениях до облучения на уровне статистической тенденции ($p = 0,06$ по Wilcoxon signed-rank test).

В пилотном эксперименте (2019/2020 г.) наилучшие результаты по разросшимся завязям (11,3 %) показали растения, облученные в дозе 15 Гр. У этих растений отмечено увеличение содержания салициловой кислоты и уменьшение индолилмасляной и индол-3-уксусной кислот. Для всех вариантов пилотного опыта наблюдали общую тенденцию формирования разросшихся завязей: разрастание тканей завязей происходило чаще в цветках нижних колосков колоса, то есть физиологически более молодых и позднее цветущих. Сделан вывод, что в дальнейших экспериментах время от кастрации до облучения и от облучения до опыления чужеродным видом необходимо максимально сократить для повышения жизнеспособности завязей. Оптимально кастрацию колосьев следует проводить в течение 2–3-х дней, облучение растений следует проводить на третий день после начала кастрации колосьев, а опыление – сразу после облучения. Выполнение этих условий может повысить частоту разросшихся завязей – потенциальных источников гаплоидных растений. Второй вывод, который сделан после этого предварительного опыта: необходимость планировать дополнительные варианты облучения колосьев в дозах 5 и 10 Гр (Воронов и др., 2023).

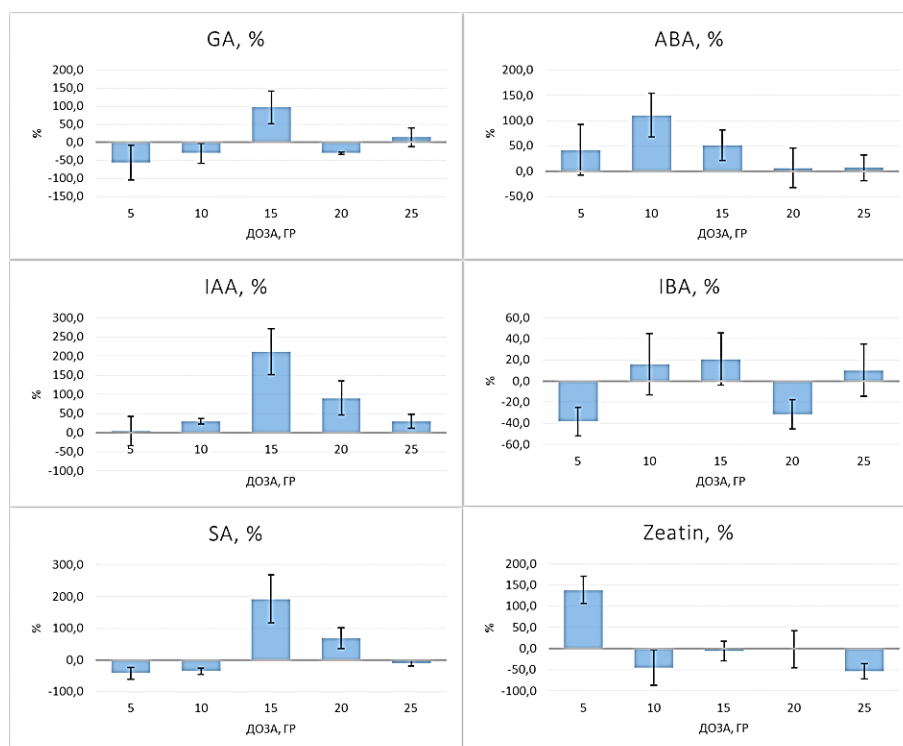
В эксперименте 2020 г. в течение трех дней были прокастрированы 148 растений. На третий день после кастрации колосья были облучены в пяти дозах в диапазоне 5–25 Гр. Задержка цветения кукурузы привела к более позднему опылению цветков. К этой процедуре приступили только на пятый день после облучения. Изменение уровня отдельных фитогормонов в растениях до и после облучения (рис. 1,А), по-видимому, не было связано с наблюдаемой частотой разросшихся завязей, так как отме-

чено редкое разрастание завязей только в дозах 5 и 15 Гр (табл. 1). У растений, облученных в дозе 5 Гр, отмечено снижение концентраций всех исследованных гормонов, кроме цитокинина зеатина, концентрация которого выросла на 138 %. При дозе 15 Гр отмечено увеличение всех исследованных гормонов, кроме зеатина (рис. 1, А).

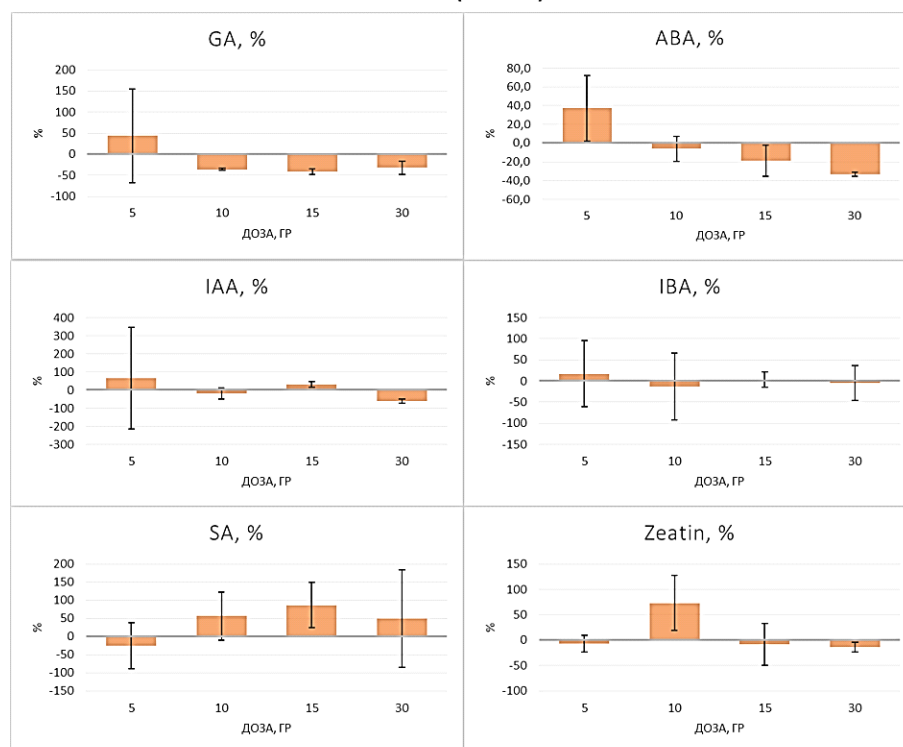
Корреляционный анализ данных изменения содержания фитогормонов в образцах 2020 г. после облучения (вне зависимости от дозы облучения) показал статистически значимую положительную корреляцию средней силы между содержанием индол-3-уксусной и салициловой кислот ($\rho = 0,64$, $p = 0,01$).

Летом 2021 г. пшеница выколашивалась не одновременно, поэтому период кастрации колосьев растянулся на 6 дней (с 25 по 30 мая). Облучение растений провели на следующий день после окончания кастрации (1 июня) в дозах 5, 10, 15 и 30 Гр, а опыление кукурузой – только на 7–13-й день после кастрации, то есть не в оптимальные сроки, когда все цветки в колосках открыты и часть завязей подсыхает. В растениях, облученных в дозах 5 и 10 Гр, отмечено повышенное разрастание завязей более чем в 2 раза по сравнению с вариантом без облучения (табл. 1) (Воронов и др., 2023). Для варианта облучения 5 Гр отмечено увеличение содержания индол-3-уксусной кислоты (на 66 %), а для 10 Гр – салициловой кислоты (на 56 %) и зеатина (на 73 %) (рис. 1, В).

Корреляционный анализ данных изменений в концентрациях гормонов в образцах после облучения вне зависимости от дозы облучения показал статистически значимую положительную корреляцию средней силы между индол-3-уксусной и абсцизовой кислотами ($\rho = 0,58$, $p = 0,05$).



A (2020)



B (2021)

Рис. 1. Разница содержания гормонов в кастрированных растениях яровой мягкой пшеницы до и после облучения в эксперименте А (2020 г.), В (2021 г.), представленная как разность содержания гормона после и до облучения к содержанию до облучения, принятому за 100 %. Ось у – разность, % (median, iqr); ось х – доза, Гр. GA – гибберелловая кислота, ABA – абсцизовая кислота, IAA – индол-3-уксусная кислота, IBA – индолилмасляная кислота, SA – салициловая кислота, Zeatin – зеатин

Fig. 1. The difference in hormone content in emasculated spring common wheat plants before and after irradiation in the trial A (2020), B (2021), presented as the difference in hormone content after and before irradiation to the content before irradiation, taken as 100 %. Y axis – difference, % (median, iqr); x-axis – dose, Gy. GA – gibberellic acid, ABA – abscisic acid, IAA – indole-3-acetic acid, IBA – indolylbutyric acid, SA – salicylic acid, Zeatin – zeatin

В 2022 г. все процедуры были выполнены в самые короткие сроки. Кастрация колосьев длилась три дня. Растения были облучены на следующий день после кастрации в дозах 5, 10, 15 и 30 Гр. На третий день после облучения за 2 дня провели опыление цветков. Таким образом, самые важные этапы гибридизации выполнены за 9 дней, когда завязи были физиологически молодыми. Однако в период после опыления температура воздуха поднялась

до 25–31°C (под пергаментными изоляторами температура была еще выше), что могло негативно повлиять на развитие зародышей и рост зерновки. Разросшиеся завязи считали дважды: на 7–8-й (рис. 2, А) и на 20-й день после опыления. При втором учете отмечали также тронувшиеся в рост, но засохшие завязи (рис. 2, В), которые визуально были вдвое больше неоплодотворенных (Воронов и др., 2023).

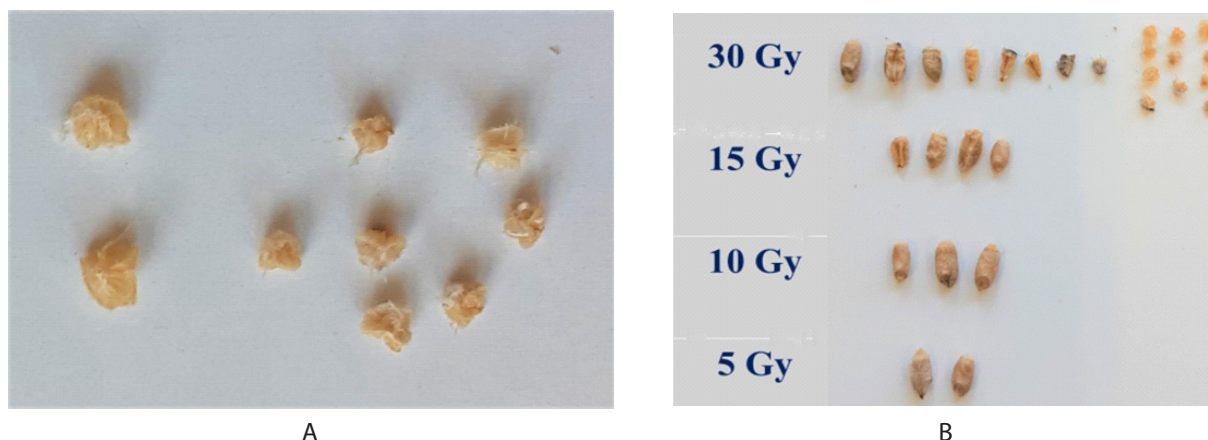


Рис. 2. А – разросшиеся завязи после опыления кукурузой (слева) и неоплодотворенные завязи (справа); В – завязавшиеся зерновки, зерновки с невыполненным эндоспермом и развивающиеся зерновки, остановившиеся в росте на разных стадиях (доза 30 Гр)

Fig. 2. А – the developed ovaries after pollination by corn (left) and unfertilized ovaries (right); В – formed caryopses, caryopses with unfulfilled endosperm and developing caryopses that have stopped growing at different stages (dose of 30 Gy)

В группе облучения в дозе 5 Гр отмечена максимальная доля завязываемости (2,39 %), которая, однако, не отличалась контрастно от других групп, а только от контрольных растений, в которых не обнаружили завязей ни на восьмой, ни на двадцатый день наблюдений (табл. 1). Наиболее выраженные изменения фитогормонального баланса проявились у растений, облученных в дозе 5 Гр, в виде статистически значимо повышенных концентраций абсцизовой и салициловой кислот, а в варианте 15 Гр – в виде статистически значимого снижения уровней абсцизовой и салициловой кислот, а также индолилмасляной кислоты (рис. 3, А).

Корреляционный анализ (рис. 4) полученных данных по изменению концентрации фитогормонов после облучения вне зависимости от дозы облучения показал статистически значимую положительную корреляцию средней силы между абсцизовой и салициловой кислотами ($\rho = 0,54$, $p < 0,05$), между абсцизовой кислотой и зеатином ($\rho = 0,58$, $p < 0,05$) и между зеатином и гибберелловой кислотой ($\rho = 0,45$, $p = 0,05$).

В связи с противоречивыми результатами предшествующих экспериментов в эксперименте 2023 г. было решено изучить влияние малых доз облучения (1, 2, 3 и 5 Гр) на разрастание завязей (табл. 1). Наибольшая доля разросшихся завязей пришлось на дозы 3 и 5 Гр (в 2,2 и 1,6 раза больше, чем в контроле, соот-

ветственно). В обеих дозах отмечено снижение концентрации индол-3-уксусной кислоты (на 82,5 % у растений, облученных в дозе 3 Гр и на 47 % – 5 Гр) в сочетании с увеличением уровня индолил-3-масляной кислоты (на 203 % в дозе 3 Гр и 68 % в дозе 5 Гр), а в дозе 5 Гр – еще и увеличение содержания гибберелловой кислоты (на 66 % (рис. 3, В)).

Корреляционный анализ данных изменения содержания фитогормонов в образцах после облучения вне зависимости от дозы облучения показал статистически значимую положительную корреляцию средней силы между индолил-3-масляной кислотой и зеатином ($\rho = 0,47$, $p = 0,05$).

В целом после облучения в более высоких дозах (10–30 Гр) отмечено повышение уровня салициловой кислоты (табл. 1, эксперименты 2019–2021 гг.). Этот гормон смягчает последствия воздействия ионизирующим излучением у проростков пшеницы за счет модуляции системы антиоксидантной защиты (Colak et al., 2021). Экзогенная обработка салициловой кислотой значительно улучшала рост растений и фотосинтетическую активность, а также регулировала вызванное γ -облучением накопление осмолитов (Colak et al., 2021). В то время как низкие концентрации салициловой кислоты усиливают антиоксидантную способность растений, высокие концентрации способствуют гибели клеток или восприимчивости к абиотическим стрессам (Jumali et al., 2011).

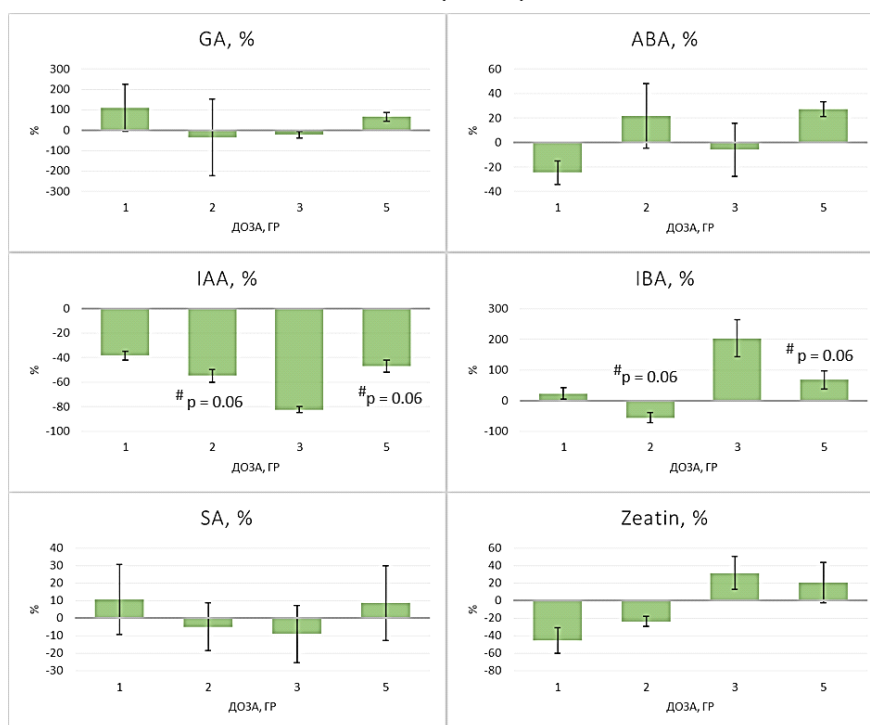
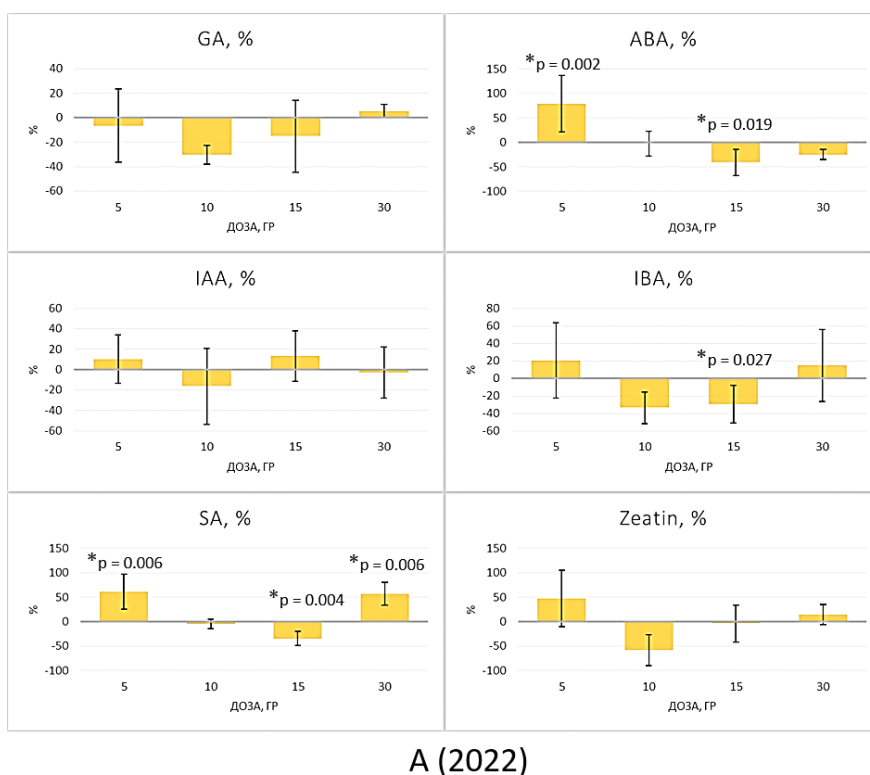


Рис. 3. Разница содержания гормонов в кастрированных растениях яровой мягкой пшеницы до и после облучения в эксперименте А (2022 г.), В (2023 г.), представленная как разница содержания гормона после и до облучения к содержанию до облучения, принятому за 100 %.

Ось у – разница, % (median, iqr); ось х – доза, Гр; * – статистически значимая разница по отношению к содержанию фитогормона до облучения в этих же растениях ($p \leq 0,05$; Wilcoxon signed-rank test); # – статистическая тенденция ($p \leq 0,1$). GA – гибберелловая кислота, ABA – абсцизовая кислота, IAA – индол-3-уксусная кислота, IBA – индолилмасляная кислота, SA – салициловая кислота, Zeatin – зеатин

Fig. 3. The difference in hormone content in emasculated spring common wheat plants before and after irradiation in the trial A (2022), B (2023), presented as the difference in hormone content after and before irradiation to the content before irradiation, taken as 100%.

Y axis – difference, % (median, iqr); x-axis – dose, Gy; * – statistically significant difference in relation to the phytohormone content before irradiation in the same plants ($p \leq 0,05$; Wilcoxon signed-rank test); # – statistical tendency ($p \leq 0,1$). GA – gibberellic acid, ABA – abscisic acid, IAA – indole-3-acetic acid, IBA – indolylbutyric acid, SA – salicylic acid, Zeatin – zeatin

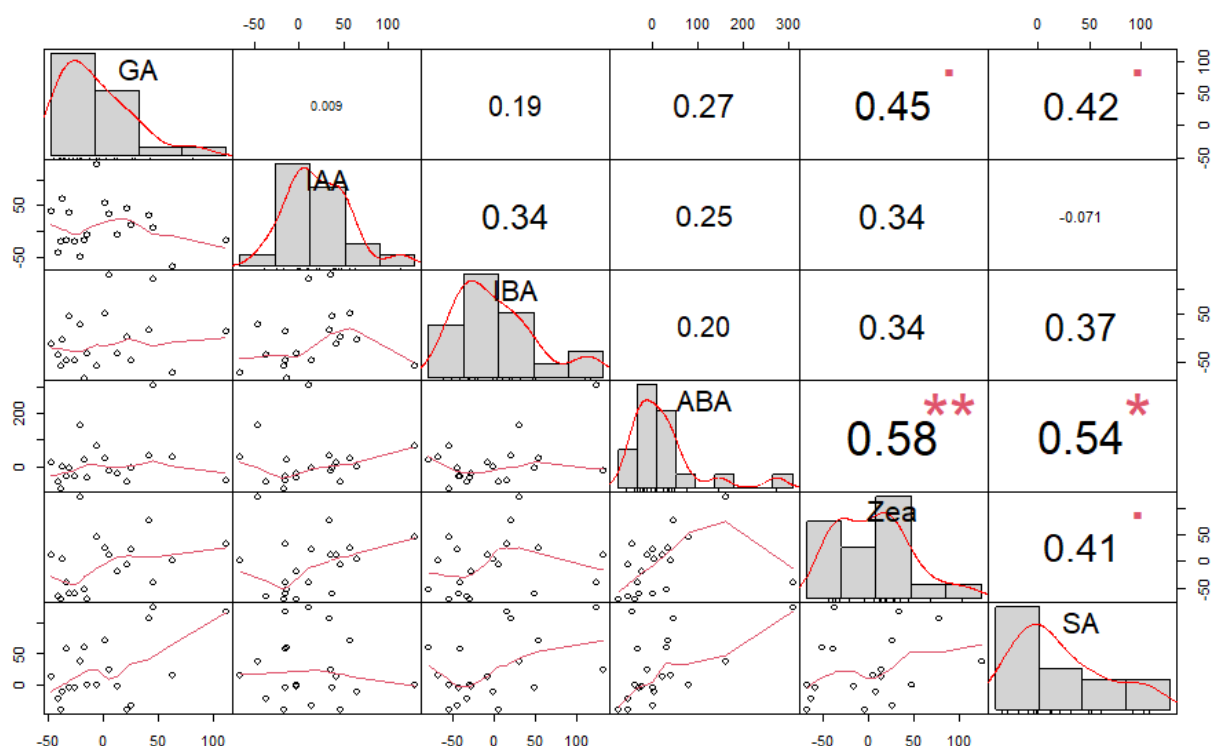


Рис. 4. Матрица корреляции разницы содержания фитогормонов после облучения в эксперименте 2022 г. (по критерию Спирмена): * – статистически значимые коэффициенты корреляции (при $p < 0,05$); ** – коэффициенты корреляции на уровне статистической тенденции ($0,05 < p < 0,075$)

Fig. 4. Correlation matrix for the difference in the content of phytohormones after irradiation in the trial in 2022 (according to Spearman's criterion): * – statistically significant correlation coefficients (at $p < 0.05$); ** – correlation coefficients at the level of statistical tendency ($0.05 < p < 0.075$)

При более низких дозах облучения (≤ 5 Гр) отмечена модуляция ауксина IAA и его предшественника IBA (табл. 1, эксперименты 2023 и 2021 гг.). Индол-3-уксусная кислота является одним из наиболее многофункциональных фитогормонов, участвующих не только в росте и развитии растений, но она также необходима для регулирования роста и координации сигналинга в условиях стресса (Kazan, 2013).

При изучении соотношения фитогормонального баланса до и после облучения в ва-

риантах с наилучшими показателями разросшихся завязей было отмечено повышение значений соотношений SA/IAA и SA/ABA после облучения растений по отношению к этим же значениям до облучения (табл. 2). При этом уровень соотношений фитогормонов-антагонистов Zea/IAA сохранялся на одном уровне как до, так и после облучения и отмечался одинаковый или пониженный уровень антагонистов Zea/ABA и GA/SA.

Таблица 2. Соотношения исследованных фитогормонов в вариантах экспериментов с наилучшими показателями разросшихся завязей у кастрированных растений яровой мягкой пшеницы до и после облучения
Table 2. Ratios of the studied phytohormones in the variants of trials with the best indicators of developed ovaries in emasculated spring common wheat plants before and after irradiation

Дозы, Гр	Год	SA/IAA	ABA/IAA	IAA/IBA	GA/IAA	Zea/IAA	SA/Zea	Zea/ABA	GA/SA	SA/ABA
5; 10	2021	*	#	*	&	#	*	&	&	*
5	2022	*	&	&	&	#	#	#	&	*
3; 5	2023	*	*	&	*	#	#	#	#	*

Примечание. # – значение соотношения у растений после облучения примерно соответствует растениям до облучения; & – значение соотношения у растений после облучения ниже, чем у растений до облучения; * – значение соотношения у растений после облучения выше, чем у растений до облучения.

Являясь сигнальной молекулой, салициловая кислота реагирует как на внутренние, так и на внешние сигналы и регулирует последующую экспрессию генов в различных биологических процессах. Известно, что концентрация SA резко возрастает на ключевых этапах диффе-

ренциации, таких как формирование однополых женских цветков, прорастание пыльцы, удлинение пыльцевой трубки и развитие завязи после оплодотворения (Luo et al., 2022). При изучении эндогенного гормонального профиля гаплоидных эмбрионов овса, полученных в ре-

зультате опыления пыльцой кукурузы, была отмечена значимая положительная корреляция между содержанием салициловой кислоты и успешностью при индукции удвоенных гаплоидов (Dziurka et al., 2019). Содержание салициловой кислоты было статистически значимо более высоким в гаплоидных эмбрионах по сравнению с зиготными эмбрионами двух сортов овса (Dziurka et al., 2022).

Накопление салициловой кислоты по сравнению с уровнями ауксинов и абсцизовой кислоты в ранний период после облучения, скорее всего, как защитный ответ растения на стресс, запускает пока неизвестные механизмы, способствующие развитию индуцированных апомиков.

Выводы. Следует отметить, что γ -облучение женского гаметофита в кастрированных растениях яровой мягкой пшеницы повышает процент разрастания завязей после опыления пыльцой кукурузы. Наилучшие результаты разрастания завязей отмечены после облучения в дозах: 15 Гр (зима 2019/2020, теплица), 5 и 10 Гр (2021 г., сосуды, естественная инсоляция), 5 Гр (2022 г., сосуды, естественная инсоляция), а также 3 и 5 Гр (2023 г., сосуды, естественная инсоляция).

Для γ -облучения кастрированных растений яровой мягкой пшеницы с целью увеличения

частоты разросшихся завязей после опыления женского гаметофита пыльцой кукурузы предлагается диапазон доз 3–15 Гр при мощности дозы 60 Гр/ч. Отмечено, что у вариантов с наилучшими показателями разросшихся завязей у кастрированных растений пшеницы после облучения и опыления пыльцой кукурузы характерно повышение значений соотношений SA/IAA и SA/ABA по отношению к этим же значениям до облучения.

Комплексность механизмов регуляции фитогормонального баланса в развитии растений в репродуктивной фазе диктует необходимость в дальнейших исследованиях влияния изменяющегося после облучения гормонального фона на развитие завязей, так как перекрестные взаимодействия фитогормонов имеют решающее значение для восприятия и передачи сигналов. Новые знания смогут пролить свет на механизмы, способствующие развитию индуцированных апомиков.

Финансирование. Часть исследований проведена в рамках Государственного задания «Исследования воздействия радиации на процессы жизнедеятельности растений, животных и микроорганизмов на генетическом, молекулярном и клеточном уровне с применением современных методов» (№ 5ф.6.3), НИЦ «Курчатовский институт» – ВНИИРАЭ.

Библиографические ссылки

1. Битаришвили С. В., Волкова П. Ю., Гераськин С. А. Влияние γ -облучения семян на фитогормональный статус проростков ячменя // Физиология растений. 2018. Т. 65, № 3. С. 223–231. DOI: 10.7868/S0015330318030065
2. Воронов С. И., Лапочкина И. Ф., Макарова И. Ю., Яшина Н. А., Пишенин И. А., Бондаренко Е. В., Волкова П. Ю. Использование гамма-облучения женского гаметофита яровой мягкой пшеницы при скрещивании с кукурузой // Достижения и перспективы селекции и технологий возделывания сельскохозяйственных культур: материалы Международной научной конференции, посвященной 140-летию со дня рождения доктора сельскохозяйственных наук, профессора, лауреата Государственной премии, Героя Социалистического Труда Виктора Евграфовича Писарева. М., 2023. Т. 1, С. 68–79.
3. Дьячук Т. И., Акинина В. Н., Хомякова О. В., Калашникова Э. В. Отдаленная гибридизация как метод получения гаплоидных растений у злаков // Биотехнология и селекция растений. 2019. № 2(2). С. 44–52. DOI: 10.30901/2658-6266-2019-2-44-52
4. Colak N., Kurt-Celebi A., Fauzan R., Torun H., Ayaz F.A. The protective effect of exogenous salicylic and gallic acids ameliorates the adverse effects of ionizing radiation stress in wheat seedlings by modulating the antioxidant defence system // Plant Physiol Biochem. 2021. Vol. 168, P. 526–545. DOI: 10.1016/j.plaphy.2021.10.020
5. Dziurka K., Dziurka M., Muszyńska E., Czyczyło-Mysza I., Warchoł M., Juzoń K., Laskoś K., Skrzypek E. Anatomical and hormonal factors determining the development of haploid and zygotic embryos of oat (*Avena sativa* L.) // Scientific Reports. 2022. Vol. 12(1), Article number: 548. DOI: 10.1038/s41598-021-04522-y
6. Dziurka K., Dziurka M., Warchoł M., Czyczyło-Mysza I., Marcińska I., Noga A., Kapłoniak K., Skrzypek E. Endogenous phytohormone profile during oat (*Avena sativa* L.) haploid embryo development // In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant. 2019. Vol. 55(2), P. 221–229. DOI: 10.1007/s11627-019-09967-5
7. Jumali S. S., Said I. M., Ismail I., Zainal Z. Genes induced by high concentration of salicylic acid in *Mitragyna speciosa* // Australian Journal of Crop Science. 2011. Vol. 5(3), P. 296–303
8. Kazan, K. Auxin and the integration of environmental signals into plant root development // Annals of botany. 2013. Vol. 112(9), P. 1655–1665.
9. Luo Y., Liu M., Cao J., Cao F., Zhang L. The role of salicylic acid in plant flower development // Forestry Research. 2022. Vol. 2(1), Article number: 14. DOI: 10.48130/FR-2022-0014
10. Pienaar R. D. V., Niekerk H. V. The effect of gamma-irradiation on wheat gametophytes // Proc. 4th In. Wheat Genetics Symp. Missouri Agr. Exp. Sta., Columbia. Mo. 1973. P. 289–294.
11. Roychoudhury A., Aftab T. Phytohormones, plant growth regulators and signaling molecules: cross-talk and stress responses // Plant Cell Reports. 2021. Vol. 40, P. 1301–1303. DOI: 10.1007/s00299-021-02755-9

12. Wani S. H., Kumar V., Shriram V., Sah S. K. Phytohormones and their metabolic engineering for abiotic stress tolerance in crop plants // The Crop Journal. 2016. Vol. 4(3), P. 162–176. DOI: 10.1016/j.cj.2016.01.010

References

1. Bitarishvili S. V., Volkova P. Yu., Geras'kin S. A. Vliyanie γ -oblucheniya semyan na fitogormonal'nyi status prorostkov yachmenya [Effect of seeds' γ -irradiation on the phytohormonal status of barley sprouts] // Fiziologiya rastenii. 2018. T. 65, № 3. S. 223–231. DOI: 10.7868/S0015330318030065
2. Voronov S. I., Lapochkina I. F., Makarova I. Yu., Yashina N. A., Pishenin I. A., Bondarenko E. V., Volkova P. Yu. Ispol'zovanie gamma-oblucheniya zhenskogo gametofita yarovoi myagkoi pshenitsy pri skreshchivanii s kukuruzoi [Use of gamma irradiation of the female gametophyte of spring common wheat when crossed with maize] // Dostizheniya i perspektivy selektsii i tekhnologii vozdelyvaniya sel'skokhozyaistvennykh kul'tur: materialy Mezhdunarodnoi nauchnoi konferentsii, posvyashchennoi 140-letiyu so dnya rozhdeniya doktora sel'skokhozyaistvennykh nauk, professora, laureata Gosudarstvennoi premii, Geroya Sotsialisticheskogo Truda Viktora Evgrafovicha Pisareva. M., 2023. T. 1, S. 68–79.
3. D'yachuk T. I., Akinina V. N., Khomyakova O. V., Kalashnikova E. V. Otdalennaya gibridizatsiya kak metod polucheniya gaploidnykh rastenii u zlakov [Distant hybridization as a method for developing haploid cereal plants] // Biotekhnologiya i selektsiya rastenii. 2019. № 2(2). S. 44–52. DOI: 10.30901/2658-6266-2019-2-44-52
4. Colak N., Kurt-Celebi A., Fauzan R., Torun H., Ayaz F.A. The protective effect of exogenous salicylic and gallic acids ameliorates the adverse effects of ionizing radiation stress in wheat seedlings by modulating the antioxidant defence system // Plant Physiol Biochem. 2021. Vol. 168, P. 526–545. DOI: 10.1016/j.plaphy.2021.10.020
5. Dziurka K., Dziurka M., Muszyńska E., Czyczyło-Mysza I., Warchoń M., Juzoń K., Laskoś K., Skrzypek E. Anatomical and hormonal factors determining the development of haploid and zygotic embryos of oat (*Avena sativa* L.) // Scientific Reports. 2022. Vol. 12(1), Article number: 548. DOI: 10.1038/s41598-021-04522-y
6. Dziurka K., Dziurka M., Warchoń M., Czyczyło-Mysza I., Marcińska I., Noga A., Kapłoniak K., Skrzypek E. Endogenous phytohormone profile during oat (*Avena sativa* L.) haploid embryo development // In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant. 2019. Vol. 55(2), P. 221–229. DOI: 10.1007/s11627-019-09967-5
7. Jumali S. S., Said I. M., Ismail I., Zainal Z. Genes induced by high concentration of salicylic acid in *Mitragyna speciosa* // Australian Journal of Crop Science. 2011. Vol. 5(3), P. 296–303.
8. Kazan, K. Auxin and the integration of environmental signals into plant root development // Annals of botany. 2013. Vol. 112(9), P. 1655–1665.
9. Luo Y., Liu M., Cao J., Cao F., Zhang L. The role of salicylic acid in plant flower development // Forestry Research. 2022. Vol. 2(1), Article number: 14. DOI: 10.48130/FR-2022-0014
10. Pienaar R. D. V., Niekerk H. V. The effect of gamma-irradiation on wheat gametophytes // Proc. 4th In. Wheat Genetics Symp. Missouri Agr. Exp. Sta., Columbia. Mo. 1973. P. 289–294.
11. Roychoudhury A., Aftab T. Phytohormones, plant growth regulators and signaling molecules: cross-talk and stress responses // Plant Cell Reports. 2021. Vol. 40, P. 1301–1303. DOI: 10.1007/s00299-021-02755-9
12. Wani S. H., Kumar V., Shriram V., Sah S. K. Phytohormones and their metabolic engineering for abiotic stress tolerance in crop plants // The Crop Journal. 2016. Vol. 4(3), P. 162–176. DOI: 10.1016/j.cj.2016.01.010

Поступила: 30.05.24; доработана после рецензирования: 17.07.24; принята к публикации: 17.07.24.

Критерии авторства. Авторы статьи подтверждают, что имеют на статью равные права и несут равную ответственность за плагиат.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Авторский вклад. Лапочкина И. Ф., Волкова П. Ю., Бондаренко Е. В. – концептуализация и ресурсное обеспечение исследования; Пишенин И. А., Макарова И. Ю., Яшина Н. А., Смирнова А. С., Казакова Е. А., Блинова Я. А., Празян А. А. – подготовка и выполнение экспериментальных (полевых и лабораторных) работ и сбор данных; Бондаренко Е. В. – статистическая обработка и визуализация данных; Лапочкина И. Ф., Волкова П. Ю., Бондаренко Е. В. – анализ данных и их интерпретация; Бондаренко Е. В. и Лапочкина И. Ф. – подготовка рукописи.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.