

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ СИБИРСКИЙ ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИИ
И БИОХИМИИ РАСТЕНИЙ СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК**

На правах рукописи



Пермякова Марина Диомидовна

**ЛИПОКСИГЕНАЗЫ ПШЕНИЦЫ *TRITICUM AESTIVUM* L.:
ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ АКТИВНОСТИ, РОЛЬ В КАЧЕСТВЕ
КЛЕЙКОВИНЫ И УСТОЙЧИВОСТИ К ЗАСУХЕ**

03.01.05 – физиология и биохимия растений

Диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук

**Научный консультант:
доктор биологических наук
Осипова С. В.**

Иркутск – 2020

ОГЛАВЛЕНИЕ

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ	7
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	13
1.1. Липоксигеназа	13
1.1.1. Структура и стереоспецифичность фермента.....	13
1.1.2. Номенклатура и доступность субстрата.....	16
1.1.3. Филогенетическое древо липоксигеназ.....	18
1.1.4. Пути метаболизма липидов у растений, инициированные липоксигеназой	20
1.1.5. Видо-, време́не-, органо- и органелло-специфичность растительных липоксигеназ.....	23
1.1.6. Растительные оксилипины	26
1.1.6.1. Липоксигеназное и неферментативное образование оксилипинов	26
1.1.6.2. Различные виды оксилипинов в клетках растений	27
1.1.6.3. Реактивные электрофильные оксилипины.....	28
1.1.7. Участие липоксигеназы в мобилизации липидов при прорастании семян и стрессе	33
1.1.8. Некоторые растительные липоксигеназы и их функции	39
1.1.9. Известные изоферменты липоксигеназы пшеницы	43
1.1.10. Жасмонат-зависимая защитная сигнализация	44
1.1.10.1. Биосинтез жасмонатов	44
1.1.10.2. Жасмонатное восприятие и сигнализация	46
1.1.10.3. Взаимодействие между ЖАК и гормонами других сигнальных каскадов	49
1.1.10.4. Регулирование жасмонатами вторичного метаболизма растений.....	52
1.1.10.5. Жасмонаты во взаимодействии растений с травоядными, насекомыми и микроорганизмами	53
1.1.10.6. Жасмонаты в процессах роста и развития растений.....	54
1.1.10.7. Место жасмонатов в сети перекрестной сигнализации фитогормонов при засухе	56
1.2. Картирование генома пшеницы	65
1.2.1. Геном пшеницы <i>Triticum aestivum</i> L.....	65
1.2.2. Идентификация генов у растений.....	67
1.2.3. Картирование локусов количественных признаков	71
1.2.4. Селекция с применением ДНК-маркеров	73
1.2.5. Генетический контроль засухоустойчивости пшеницы	74
1.2.5.1. Природа признаков и генов, вовлеченных в устойчивость к засухе	74
1.2.5.2. Молекулярные механизмы и гены ответа на засуху у <i>Triticum aestivum</i>	75
1.2.5.3. Картирование локусов количественных признаков, связанных с засухой	81
1.2.6. Известные локусы липоксигеназы в геноме пшеницы	86
1.3. Хлебопекарные свойства пшеницы	89
1.3.1. Параметры текстуры эндосперма и качества клейковины гексаплоидной пшеницы.....	89
1.3.2. Молекулярно - генетическая основа текстуры эндосперма	91
1.3.3. Молекулярные процессы, лежащие в основе формирования клейковины.....	93
1.3.4. Система ферментов тиол - дисульфидного обмена в зерновке пшеницы.....	96
1.3.5. Липиды в хлебопечении	98

1.3.6. Влияние липоксигеназы на хлебопекарные свойства мягкой пшеницы.....	101
1.3.7. Генетика хлебопекарных свойств пшеницы.....	105
Заключение к обзору литературы	108
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	112
2.1. Объекты исследования и условия выращивания.....	112
2.2. Получение ферментных экстрактов и определение содержания белка	115
2.3. Определение активности ферментов	117
2.4. Электрофорез и иммуноблоттинг изоферментов липоксигеназы	119
2.5. Экстракция и определение концентрации пигментов	121
2.6. Определение биомассы побега, параметров газообмена, фотосинтеза и фенологии	121
2.7. Оценка технологических свойств зерна и муки	122
2.8. Картирование локусов количественных признаков и выявление кандидатных генов	124
2.9. Статистическая обработка результатов.....	125
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ.....	127
3.1. Липоксигеназы семян пшеницы	127
3.1.1. Молекулярные формы липоксигеназы семян пшеницы.....	127
3.1.2. Роль отдельных хромосом генома пшеницы в проявлении активности липоксигеназы семян.....	127
3.1.2.1. Липоксигеназная активность в семенах пшеницы трех серий замещенных линий по хромосомам 4-й и 5-й гомеологических групп.....	128
3.1.2.2. Липоксигеназная активность в семенах замещенных линий пшеницы Саратовская 29/Янецкис Пробат по разным гомеологическим группам хромосом	131
3.1.2.3. Липоксигеназная активность в семенах замещенных линий пшеницы Диамант 2/Новосибирская 67 по хромосомам 1 и 6 гомеологических групп	132
3.1.3. Влияние растворимой липоксигеназы семян на хлебопекарные свойства пшеницы.....	135
3.1.3.1. Влияние экзогенной соевой липоксигеназы на хлебопекарные параметры пшеницы.....	135
3.1.3.2. Взаимосвязь между активностью эндогенной растворимой липоксигеназы семян и параметрами качества зерна и теста гексаплоидной пшеницы.....	138
3.1.4. Влияние абиотического стресса на активность липоксигеназы семян, ее хромосомную регуляцию и физиологические параметры пшеницы	149
3.1.4.1. Липоксигеназная активность в семенах рекомбинантных инбредных линий пшеницы ITMI и ее взаимосвязь с параметрами качества клейковины в различных условиях среды.....	150
3.1.4.2. Активность растворимой липоксигеназы семян и физиологические параметры в замещенных линиях пшеницы Чайниз Спринг/Синтетик 6х при благоприятных условиях и водном дефиците	151
3.1.4.3. Активность липоксигеназы в семенах интрогрессированных рекомбинантных линий Чайниз Спринг/Синтетик 6х при благоприятных условиях и водном дефиците.....	154
3.1.4.4. Взаимосвязь между активностью растворимых форм липоксигеназы семян пшеницы и параметрами биометрии, зерновой продуктивности, агрегирующей способности клейковинных белков при благоприятных условиях и водном дефиците	156
3.2. Липоксигеназы проростков пшеницы	157
3.2.1. Изоферментный состав липоксигеназы проростков пшеницы	157
3.2.2. Активность липоксигеназы в проростках интрогрессированных рекомбинантных линий пшеницы Чайниз Спринг/Синтетик 6х по хромосоме 5D в разных условиях проращивания.....	158
3.3. Липоксигеназы листьев пшеницы	161
3.3.1. Изоферментный состав липоксигеназы листьев пшеницы	161

3.3.2. Влияние абиотического стресса на активность растворимых и мембраносвязанных форм липоксигеназы листьев и ее взаимосвязь с физиологическими параметрами пшеницы.	165
3.3.2.1. Активность разных форм липоксигеназы в листьях замещенных линий пшеницы Чайниз Спринг/Синтетик 6х в условиях оптимального и недостаточного водоснабжения.....	165
3.3.2.2. Активность разных форм липоксигеназы и параметры газообмена и фотосинтеза в листьях интрогрессированных рекомбинантных линий пшеницы Чайниз Спринг/Синтетик 6х по хромосомам 2D, 5D и 7D в условиях разного водоснабжения	168
3.3.2.3. Активность растворимой липоксигеназы в листьях и другие физиологические параметры у рекомбинантных замещённых дигаплоидных линий пшеницы Саратовская 29/Янецкис Пробат по хромосоме 2A в условиях разного водообеспечения.....	172
3.3.2.4. Взаимосвязь между активностью разных форм липоксигеназы листьев и физиологическими параметрами при благоприятных условиях и водном дефиците.....	176
3.4. Влияние интрогрессии диких злаков в геном <i>Triticum aestivum</i> L. на активность липоксигеназы и физиологические параметры пшеницы.....	182
3.4.1. Интрогрессия <i>Aegilops speltoides</i>	183
3.4.2. Интрогрессия <i>Triticum timopheevii</i>	185
3.4.3. Интрогрессия <i>Aegilops taushii</i>	187
3.5. Картирование в геноме пшеницы локусов, ассоциированных с активностью липоксигеназы, физиологическими и технологическими признаками с использованием нескольких картирующих популяций рекомбинантных линий.....	192
3.5.1. Картирование локусов, ассоциированных с активностью растворимой липоксигеназы семян и параметрами качества клейковины при помощи рекомбинантных инбредных линий пшеницы ГТМІ	192
3.5.2. Картирование локусов, ассоциированных с активностью разных форм липоксигеназы и физиологическими параметрами при помощи интрогрессированных рекомбинантных линий пшеницы Чайниз Спринг/Синтетик 6х	194
3.5.3. Картирование активности растворимой липоксигеназы листьев при помощи рекомбинантных замещенных дигаплоидных линий пшеницы Саратовская 29/Янецкис Пробат 2A.....	198
3.5.4. Выявление генов-кандидатов для ЛКП, ассоциированных с активностью растворимой липоксигеназы на хромосоме 2AL.....	201
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ	219
4.1. Изоферменты липоксигеназы <i>Triticum aestivum</i> L.	219
4.2. Генетическая регуляция активности липоксигеназы пшеницы.....	220
4.2.1. Выявление хромосом, участвующих в регуляции активности липоксигеназы пшеницы... ..	220
4.2.2. Генетическое картирование локусов, ассоциированных с активностью липоксигеназы в геноме пшеницы и выявление генов - кандидатов.....	223
4.3. Влияние интрогрессии генов липоксигеназы диких злаков в геном <i>Triticum aestivum</i> L. на устойчивость пшеницы к воддефицитному стрессу	241
4.4. Физиологическая роль разных форм липоксигеназы пшеницы	245
4.4.1. Растворимые липоксигеназы зрелых семян пшеницы.....	245
4.4.2. Растворимые и мембраносвязанные липоксигеназы проростков пшеницы	255
4.4.3. Растворимые и мембраносвязанные липоксигеназы листьев пшеницы	258
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	262
ВЫВОДЫ	265
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	267

СПИСОК ОСНОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АБК – абсцизовая кислота
 АМ – арбускулярная микориза
 АФА – активные формы азота
 БР – brassinosteroids
 ВПС - водопоглощительная способность теста
 ГК - gibberellin acid
 ГР – глутатионредуктаза
 ДАГ – диацилглицерин
 ДГАР – дегидроаскорбатредуктаза
 ДГДГ – дигалактозилдиацилглицерол
 Дм – сорт пшеницы Диамант 2
 ЖАК-Иле – конъюгат жасмоновой кислоты и изолейцина
 ЖК – жирная кислота
 ИРЛ - introgressed recombinant lines
 ИУ% - индекс устойчивости признака к засухе
 ИУК – индолилуксусная кислота
 КАТ – каталаза
 ЛКП, QTL – локусы количественных признаков
 ЛК – линолевая кислота
 ЛнК – α-линоленовая кислота
 МАГ – моноглицерол
 МДА – малоновый диальдегид
 МеЖАК – метиловый эфир жасмоновой кислоты
 МГДГ – моногалактозилдиацилглицерол
 М1000з – масса 1000 зерен
 Н67 – сорт пшеницы Новосибирская 67
 ОФДК – 12-оксофитодиеновая кислота
 dn-ОФДК – динорная 12-оксофитодиеновая кислота
 цис-ОФДК – цис (+)-оксофитодиеновая кислота
 ОСВ – относительное содержание воды
 ПИН, PIN – пуриноидины
 ПНЖК – полиненасыщенные (полиеновые) жирные кислоты
 ПОЛ – перекисное окисление липидов
 РЗДЛ - recombinant substituted diploid lines
 РИЛ – recombinant inbred lines
 РЧ – размер частиц муки
 С29 – сорт пшеницы Саратовская 29
 СЖК – свободные жирные кислоты
 СОД – супероксиддисмутаза
 СПУ – системная приобретенная устойчивость
 СХДГ – сульфохиновозилдиглицерид
 ТАГ – триацилглицерол
 ТПДО – тиолпротеиндисульфид оксидоредуктаза
 ТФ – транскрипционный фактор
 ЦК – цитокинины
 ЧС – сорт пшеницы Чайниз Спринг (CS, Chinese Spring)
 УПЧМ – удельная поверхность частиц муки
 ЭДТА – этилендиаминтетрауксусная кислота
 ЭР – эндоплазматический ретикулум
 ЭТ – этилен
 ЯП - сорт пшеницы Янецкис Пробат (JP, Janetzki Probat)
 % ФВ – процент фенотипических вариаций

AOC - алленоксидциклаза
 AOS —алленоксидсинтаза
 APOX – аскорбатпероксидаза
 ARF – фактор ответа ауксина
 CCD – каротиноид-расщепляющие диоксигеназы
 DAD1 – фосфолипаза A (Defective in Anther dehiscence 1)
 DES – дивинилэфирсинтаза
 ДНА – докозагексаеновая жирная кислота
 α -DOX – α -диоксигеназа
 EAS – эпоксиалкогольсинтаза
 EPA – эйкозапентаеновая жирная кислота
 ERF – фактор ответа этилена
 EST – клоны кДНК экспрессирующихся последовательностей ДНК
 FMM – функциональные молекулярные маркеры (внутригенные маркеры)
 GLA1 – галактолипаза A1
 GOX – глюкозооксидаза
 GSH – восстановленный глутатион
 GSP1 – белок «мягкозерности»
 GST - глутатион-S-трансфераза
 GWAS – широко-геномные ассоциативные картирующие исследования
 HPL – гидропероксидлиаза
 HDA6, HDA19, HDA9 – гистон деацетилаза 6, 19, 9
 HMW-GS – высокомолекулярные субъединицы глютенина
 ITMI – популяция пшеницы International Mapping Triticiceae Initiative
 JAZ - JASMONATE ZIM DOMAIN – белок
 L – растяжимость теста
 LMW-GS - низкомолекулярные субъединицы глютенина
 LOD – lodlikelihood ratio, десятичный логарифм вероятности
 LTP – липид-трансферный белок
 MABC – программа скрещивания с помощью маркера
 MAS – маркер-ассоциированная селекция (marker-assisted selection)
 MED25 – субъединица 25 медиаторного комплекса
 MQTL – металocus количественного признака
 MTA – ассоциации locus количественного признака – маркер – признак
 MWD – распределение молекулярных масс полимерных белков
 MYC2 –транскрипционный фактор типа bHLH
 NCED – 9-цис-эпоксикаротиноиддиоксигеназа
 NINJA – адаптерный белок «Novel Interactor of JAZ»
 OPR – 12-оксофитодиеновой кислоты редуктаз
 P – упругость теста
 PDI – протеиндисульфидизомераза
 PLA – фосфолипаза A
 POX – пероксидаза
 PPA1 – A1-фитопростан
 PPO – полифенолоксидаза
 eQTL – expression QTL, РНК-транскрипты от конкретного гена
 pQTL – protein QTL, количество белка, полученного от определенного гена
 RES – реактивные электрофильные виды
 RNS – симбиотическая азотфиксация
 SCF – Skp1 / Cullin/F-box комплекс
 THOD – транс-2-ноненаль и тригидрокси-октадеценивая кислота
 VSP – вегетативный запасной белок
 9,16-diHPOT – 9,16-дигидроперокси-10(E),12(Z), 14(E)-октадекатриеновая кислота
 13-HPOD – (13)-гидроперокси-(9Z,11E)-октадекадиеновая кислота
 9-HPOD – (9S)-гидроперокси-(10E,12Z)-октадекадиеновая кислота

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Развитие и выживание растений в неблагоприятных условиях в большой степени зависит от мобилизации запасных и мембранных липидов и оксилипиновой сигнализации. Образование оксилипинов происходит в результате самоокисления, а также с участием ферментов, среди которых основным является липоксигеназа (ЛОГ) (Mosblech et al., 2009). Оксигеназные реакции превращения полиненасыщенных жирных кислот, инициированные липоксигеназой – это метаболические пути образования физиологически активных веществ, в том числе фитогормона жасмоновой кислоты (ЖАК) (Lartieu, Vernoux, 2016), а также оксилипинов с функцией характерных реактивных эпоксидов, α,β -ненасыщенных карбониллов или альдегидов, которые вовлечены в различные процессы в онтогенезе растений и ответные реакции на стрессоры. (Liavonchanka, Feussner, 2006).

Пшеница - одна из основных продовольственных культур в мире, поэтому сохранение ее урожайности и хлебопекарных свойств в разных экологических условиях является важной и актуальной задачей. Исследование влияния липоксигеназы семян *Triticum aestivum* L. на формирование и качество клейковины востребовано для практического применения в хлебопекарной промышленности (Bahal et al., 2013).

Значительная площадь посевов пшеницы находится в зоне недостаточного или неустойчивого увлажнения. Учитывая огромные потери урожая, вызванные засухой, существует настоятельная необходимость в повышении устойчивости пшеницы к дефициту воды (Khanna-Chopra, Singh, et al., 2015). В последние годы стало известно, что при адаптации к водному дефициту у *Arabidopsis thaliana* главное значение имеет синергическое действие абсцизовой кислоты (АБК) и оксилипинов, образованных липоксигеназой, главным образом, ЖАК (de Ollas, Dodd, 2016; Savchenko et al., 2014).

В настоящее время хорошо изучены липоксигеназы семян у тетраплоидной пшеницы в связи с негативным действием на ее макаронные свойства (Fu et al., 2013). Имеются некоторые сведения о влиянии семенных ЛОГ на хлебопекарные свойства гексаплоидной пшеницы (Bahal et al., 2013) и трех изоферментов ЛОГ листьев на устойчивость к патогенам (Bohland et al., 1999). Данных о других липоксигеназах у *T. aestivum* крайне мало. Изучение изоферментов ЛОГ и взаимосвязи их активности с устойчивостью пшеницы к засухе поможет выявить неизвестные функции пшеничных липоксигеназ при адаптации растений пшеницы к стрессу.

Разработанные в последние десятилетия молекулярные технологии картирования геномов растений позволяют выявлять геномную архитектуру сложных полигенных

признаков, таких как засухоустойчивость. В настоящее время крайне актуально фенотипирование картирующих пшеничных популяций по физиологическим и биохимическим признакам с целью идентификации в геноме *T. aestivum* локусов количественных признаков (ЛКП) (Gupta et al., 2017), ассоциированных с устойчивостью к засухе. Выявление кандидатных генов, лежащих в основе ЛКП, с использованием опубликованного в 2018 году референсного генома гексаплоидной пшеницы позволит выявить молекулярные механизмы устойчивости и адаптации растений к засухе.

Изучение генетической регуляции активности липоксигеназы, как фактора, участвующего в перестройке метаболизма растений пшеницы при адаптации к неблагоприятным условиям, а также в формировании хлебопекарного качества пшеницы представляет интерес для создания новых улучшенных генотипов пшеницы методами хромосомной и генетической инженерии и селекцией с помощью ДНК-маркеров.

Цель и задачи исследования. Целью данной работы было исследование активности липоксигеназы и её генетической регуляции у *T. aestivum* L. в разных условиях среды, выявление изоферментного состава и роли в формировании качества клейковины и устойчивости к засухе.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

1. Изучить изоферментный состав и активность липоксигеназы в белковых фракциях, обогащенных растворимой, микросомальной, и хлоропластными формами фермента в семенах, проростках и листьях растений разных генотипов *T. aestivum* L. при оптимальных и стрессовых условиях выращивания. Выявить взаимосвязь ферментативной активности с физиологическими и хлебопекарными параметрами пшеницы.
2. Оценить значение семенных ЛОГ в определении хлебопекарных свойств гексаплоидной пшеницы по результатам изучения мукомольных и тестосмесительных параметров, физических свойств теста, качества клейковины и хлеба.
3. Изучить влияние интрогрессии диких злаков в геном *T. aestivum* L. на активность ЛОГ и физиологические параметры пшеницы, используя линии с интрогрессией *Aegilops speltoides*, *Aegilops tauschii* и *Triticum timopheevii*.
4. Провести генетическое картирование локусов количественных признаков (ЛКП), ассоциированных с активностью разных форм ЛОГ при помощи рекомбинатных линий пшеницы. Выявить ко-локализацию липоксигеназных локусов с ЛКП физиологических и технологических признаков пшеницы и идентифицировать в ее геноме регионы,

контролирующие формирование хлебопекарного качества и адаптацию к неблагоприятным факторам.

5. Отобрать *a priori* кандидатные гены, связанные с регуляцией активности ЛОГ при водном дефиците с использованием биоинформационного анализа референсного генома *T. aestivum* L. и показать их место в генной сети для перестройки метаболизма растений пшеницы при адаптации к засухе.

6. Определить функциональные роли для отдельных форм ЛОГ на основе анализа корреляционной взаимосвязи активности растворимой, микросомальной и двух хлоропластных форм фермента с 49 физиологическими и хлебопекарными признаками и их ко-локализации в геноме *T. aestivum* L.

Научная новизна работы. Данная работа является первым комплексным исследованием липоксигеназы пшеницы, ее генетического контроля и функциональности в адаптации к неблагоприятным факторам и формировании хлебопекарного качества клейковины путем изучения ее активности в большом наборе специально подобранных генетических моделей.

Впервые выявлен изоферментный состав растворимой и мембранной форм липоксигеназы в разных органах растений пшеницы при оптимальных и стрессовых условиях.

Впервые определена взаимосвязь между активностью различных форм ЛОГ и устьичной проводимостью транспирацией, содержанием фотосинтетических пигментов, флуоресценцией хлорофилла, а также зерновой продуктивностью гексаплоидной пшеницы в зависимости от условий выращивания.

Впервые проведено генетическое картирование локусов количественных признаков, ассоциированных с активностью нескольких форм липоксигеназы, и показана их ко-локализация с ЛКП многих физиологических признаков в геноме *T. aestivum* L.

Биоинформационным анализом референсного генома *T. aestivum* L. на длинном плече хромосомы 2A впервые выявлены аннотированные гомологи генов биосинтеза двух изоферментов ЛОГ и 50-ти кандидатных генов для регуляции ее активности.

Впервые выявлена генная сеть регуляции оксипинового сигналинга в хромосомных регионах 2A 149.5-151.3 сМ и 2A 99.3 - 115.1 сМ генома *T. aestivum* L., тесно вплетенная в генную сеть гормональной регуляции перестройки метаболизма при водном дефиците.

Впервые определена физиологическая роль для нескольких форм липоксигеназы пшеницы и показано их дифференцированное участие в адаптации к засухе.

Впервые показано влияние интрогрессии сегментов генома диких злаков *Ae. taushii* и *T. timopheevii* в геном *T. aestivum* L. на активность липоксигеназы и физиологические параметры, связанные с устойчивостью к водному дефициту.

Впервые сформулирована гипотеза о синергичном действии липоксигеназы и пуриноидинов, которая представляет новый взгляд на формирование текстуры эндосперма, качество клейковины и мобилизацию липидов эндосперма при прорастании семян гексаплоидной пшеницы.

Теоретическая и практическая ценность работы. Обнаружение в геноме пшеницы регионов, ассоциированных с регуляцией активности липоксигеназы, и выявление кандидатных генов способствуют познанию механизма перепрограммирования метаболизма растений при стрессе.

Идентифицированные в данной работе ЛКП, связанные с активностью разных форм липоксигеназы в геномах А, В и D гексаплоидной пшеницы, можно применить в ассоциированной с ДНК-маркерами селекции для улучшения засухоустойчивости и технологического качества пшеницы.

Понимание механизма воздействия ЛОГ на формирование белково-липидного комплекса клейковины пшеницы может быть полезно для целенаправленного применения фермента в хлебопекарной и кондитерской технологиях как средства регуляции твердозерности и улучшения качества хлеба и мучных кондитерских изделий.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту.

1. Факторы регуляции активности липоксигеназы широко представлены в геноме *T. aestivum* L., тесно сцеплены с локусами многих физиологических признаков и контролируют хлебопекарное качество и перестройку метаболизма при адаптации к стрессу.
2. Липоксигеназа семян пшеницы способствует формированию мягкой текстуры эндосперма и укреплению клейковины путем снижения ее растяжимости.
3. Интрогрессия сегментов генома *Ae. tauschii* в хромосому 2D *T. aestivum* L. изменяет изоферментный состав ЛОГ листьев с преимуществом цитозольных изоформ над хлоропластными и стратегию адаптации пшеницы к водному дефициту за счет снижения транспирации и увеличения эффективности использования воды.
4. Активность растворимых, микросомальных и хлоропластных липоксигеназ листьев *T. aestivum* связана с их специфическими функциями при адаптации к засухе.

Апробация работы. Результаты исследования были представлены более чем на 16 различных российских и международных конференциях, в том числе, на 11-й, 12-й, 13-й и

14-й международных конференциях Европейского сообщества по анеуплоидам пшеницы (EWAC) (2000, Новосибирск; 2002 Норвич; 2005, Прага; 2007, Стамбул), на 15-й, 16-й и 17-ой международных конференция EWAC Eucarpia (2011, Нови Сад; 2015, Люблин; 2018, Бухарест), на 11-м международном симпозиуме по генетике пшениц (2008, Брисбен), на международном симпозиуме «Липиды и оксипирины растений» (2008, Казань), на международной конференции «Генетика, геномика и биотехнология растений (2010, Новосибирск; 2012, Иркутск), на 1-м международном рабочем собрании «Plant Genetics and Genomics for Food Security» (2016, Новосибирск), на всероссийской конференции с международным участием «Механизмы устойчивости растений и микроорганизмов к неблагоприятным условиям среды» (2009, 2016, 2018, Иркутск), на 2-й всероссийской научной конференции с международным участием «Механизмы регуляции функций органелл эукариотической клетки» (2018, Иркутск).

Публикации. По результатам исследования опубликовано более 75 научных работ, в том числе 18 статей в ведущих отечественных и зарубежных рецензируемых журналах, индексированных в WoS и Scopus.

Объем и структура работы. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов, обсуждения, заключения, выводов и списка литературы. Материал диссертации изложен на 313 страницах печатного текста, включая 38 таблиц и 57 рисунков. Список цитированной литературы содержит 652 работы.

Личный вклад автора. Автору принадлежат постановка цели и задач исследования, обработка, интерпретация и обобщение результатов. Исследование активности ЛОГ во всех изученных генотипах *T. aestivum* L. выполнено автором. Моделирование засухи, изучение физиологических и технологических параметров и изоферментный анализ выполнены совместно с сотрудниками лаборатории физиолого-биохимической адаптации растений СИФИБР СО РАН и сектора генетики качества зерна ИЦиГ СО РАН. Генетическое картирование выполнено А. Бернером (IPK, Институт генетики растений и изучения культурных растений им. Лейбница, Германия, Гатерслебен). Биоинформационный анализ для трех хромосомных регионов пшеницы проведен сотрудниками ИЦиГ СО РАН А.В. Дорошковым и Д.К. Константиновым. Выявление функциональной взаимосвязи генов в этих регионах, генной сети для перестройки метаболизма растений пшеницы при стрессе и *a priori* кандидатных генов для регуляции активности ЛОГ выполнено автором.

Благодарности. Выражаю глубокую признательность научному консультанту д.б.н. Осиповой С.В. (СИФИБР СО РАН) за многолетнее сотрудничество в экспериментальной работе, ценные советы и рекомендации при подготовке рукописи диссертационной работы.

Выражаю большую благодарность и признательность Пшеничниковой Т.А., зав. сектором генетики качества зерна ИЦиГ СО РАН (Новосибирск) за предоставление уникального генетического материала для исследований и многолетнее плодотворное сотрудничество в области генетического контроля качества зерна пшеницы и ее засухоустойчивости. Выражаю благодарность всем работникам сектора генетики качества зерна за анализ технологических параметров зерна и теста и определение фенологических признаков пшеницы. Благодарна сотрудникам ИЦиГ СО РАН Дорошкову А.В. и Константинову Д.К. за биоинформационный анализ хромосомных регионов пшеницы. Благодарю А. Бернера и У. Лохвассер (IPK, Институт генетики растений и изучения культурных растений им. Лейбница, Германия, Гатерслебен) за проведение генетического картирования. Выражаю большую благодарность сотрудникам лаборатории физиолого-биохимической адаптации растений СИФИБР СО РАН к.б.н. Пермякову А.В. за сотрудничество в экспериментальной работе, электрофоретическое исследование ЛОГ и помощь в подготовке иллюстративного материала диссертации, а также к.б.н. Рудиковской Е.Г. за анализ пигментов фотосинтеза. Выражаю благодарность Верхотурову В.В. (Национальный исследовательский Иркутский государственный технический университет) за предоставление приборов для исследований. Благодарю сотрудников СИФИБР СО РАН д.б.н. Ломоватскую Л.А, к.б.н. Дудареву Л.В. и д.б.н. Грабельных О.И. за рецензию рукописи и неоценимую помощь в ее улучшении, а также многих сотрудников СИФИБР СО РАН за помощь и поддержку.

Исследования выполнялись при финансовой поддержке грантов РФФИ 15-04-02762 и 18-04-00481. В работе использовали оборудование Байкальского аналитического центра коллективного пользования “Фитотрон СИФИБР СО РАН”.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Липоксигеназа

1.1.1. Структура и стереоспецифичность фермента

Липоксигеназа (линолеат: кислород оксидоредуктаза, ЛОГ, LOX) состоит из одной полипептидной цепочки с молекулярной массой 75 – 80 кДа у животных и 90 – 115 кДа у растений. Фермент имеет N-терминальный β -баррель домен и большой каталитический домен, содержащий один атом негемового железа. В низших организмах ЛОГ могут встречаться в виде слитых белков, в которых домен ЛОГ связан с другим каталитическим доменом, который играет роль во вторичном метаболизме гидропероксидов жирных кислот (ЖК) (Löhelaïd et al., 2015).

На примере соевой ЛОГ-1 было продемонстрировано, что каталитически активная форма ЛОГ содержит трехвалентное железо. Из культуры *Magnaporthe oryzae* была выделена и кристаллизована ЛОГ, кофактором у которой является не железо, а марганец (Wennman et al., 2016).

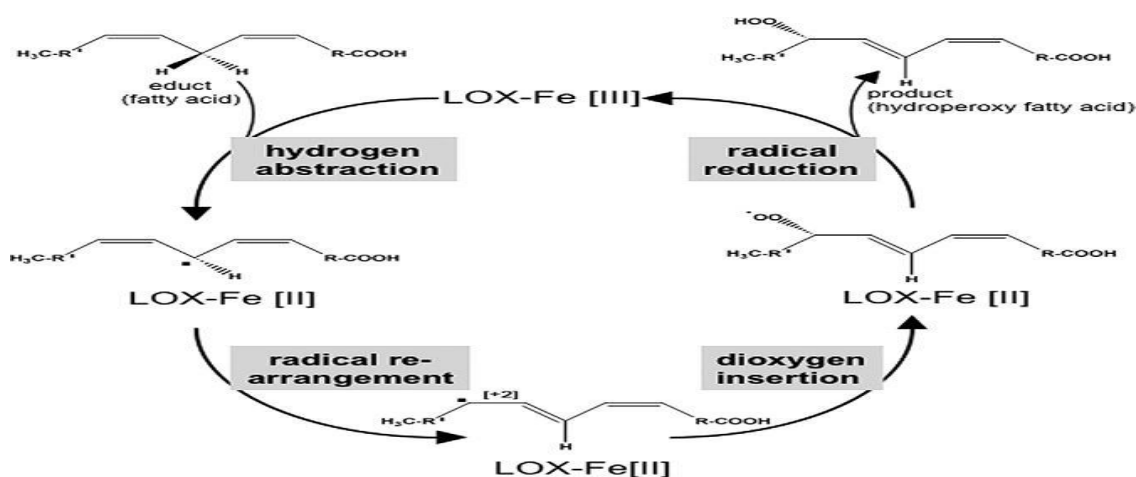


Рис. 1. Радикальный механизм катализа липоксигеназы (Kuhn, Thiele, 1999).

Хотя детальный механизм катализа ЛОГ продолжают изучать и уточнять (Offenbacher et al., 2017), его радикальная природа не вызывает сомнений. Реакция ЛОГ состоит из трех последовательных этапов: 1) стереоспецифичное отщепление водорода от метиленовой группы между двумя двойными связями; 2) перегруппировка, сопровождаемая Z,E-диен-конъюгацией ([+2] и [-2]), в результате которой образуется свободный радикал; 3) стереоспецифичное (S- или R-) присоединение молекулярного кислорода к 2(E),4(Z) пентадиеновому радикалу и восстановление гидропероксидно-радикального интермедиата с образованием аниона (рис. 1).

Со стереохимической точки зрения каждый из этих шагов может проходить различными путями. Классический механизм реакций ЛОГ включает образование пентадиенового радикала. Спектроскопическое изучение взаимодействия соевой ЛОГ-1 с линолевой кислотой (ЛК) показывает образование дикислородных мостиков алленовых радикалов (Kuhn, Thiele, 1999). Согласно этой гипотезе, направление радикальной перестановки ([+2] или [-2]) зависит от того, как конформация ЖК «пригоняется» в активном сайте (рис. 2).

ЛОГ является универсальным катализатором, потому что этот многофункциональный фермент катализирует, по меньшей мере, три различных типа реакций: диоксигенирование липидных субстратов (реакция диоксигеназы), вторичная конверсия гидропероксилипидов (гидропероксидазная реакция) и образование эпоксидных лейкотриенов (лейкотриен синтазы). В биотехнологии используются главным образом растительные ЛОГ, поскольку они более стабильны, чем ЛОГ млекопитающих (Liavonchanka, Feussner, 2006).

В физиологических условиях реакция диоксигенации наиболее распространена в растениях и ее основными субстратами являются С18 полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК). Два различных региоизомера гидропероксидов ПНЖК могут быть определены по двум независимым свойствам катализа. Две модели используются для понимания реакционного механизма позиционной специфичности ЛОГ (рис. 2).

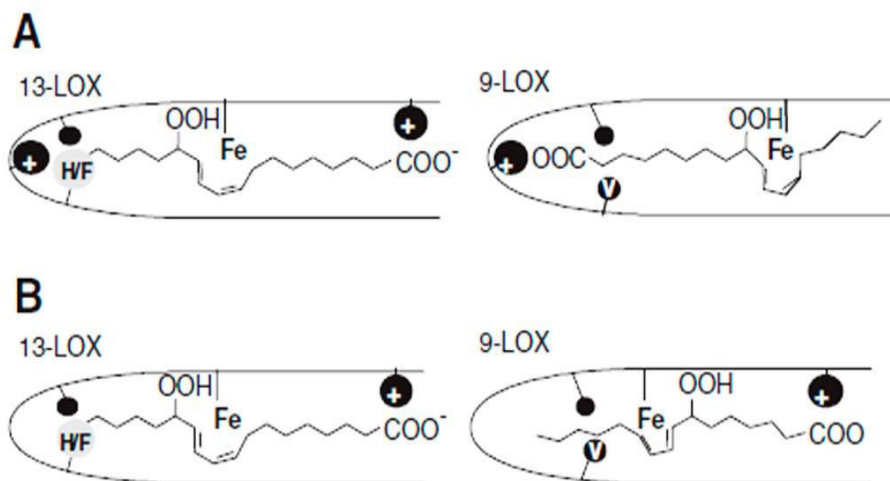


Рис. 2. Сравнение двух разных моделей, объясняющих позиционную специфичность ЛОГ (Liavonchanka, Feussner, 2006).

(А) Пространственная теория: прямое выравнивание субстрата в активном сайте ЛОГ (В) Ориентационно-зависимая теория: прямое и обратное выравнивание субстрата в активном сайте ЛОГ.

Пространство в активном сайте и ориентация субстрата являются важными детерминантами позиционной специфичности ЛОГ (Liavonchanka, Feussner, 2006). Она модифицируется также такими дополнительными факторами, как концентрация субстрата, физико-химическое состояние субстрата, рН или температура. Однако следует подчеркнуть, что для

многих ЛОГ региоспецифичность может определяться большим комплексом факторов (рис. 3).

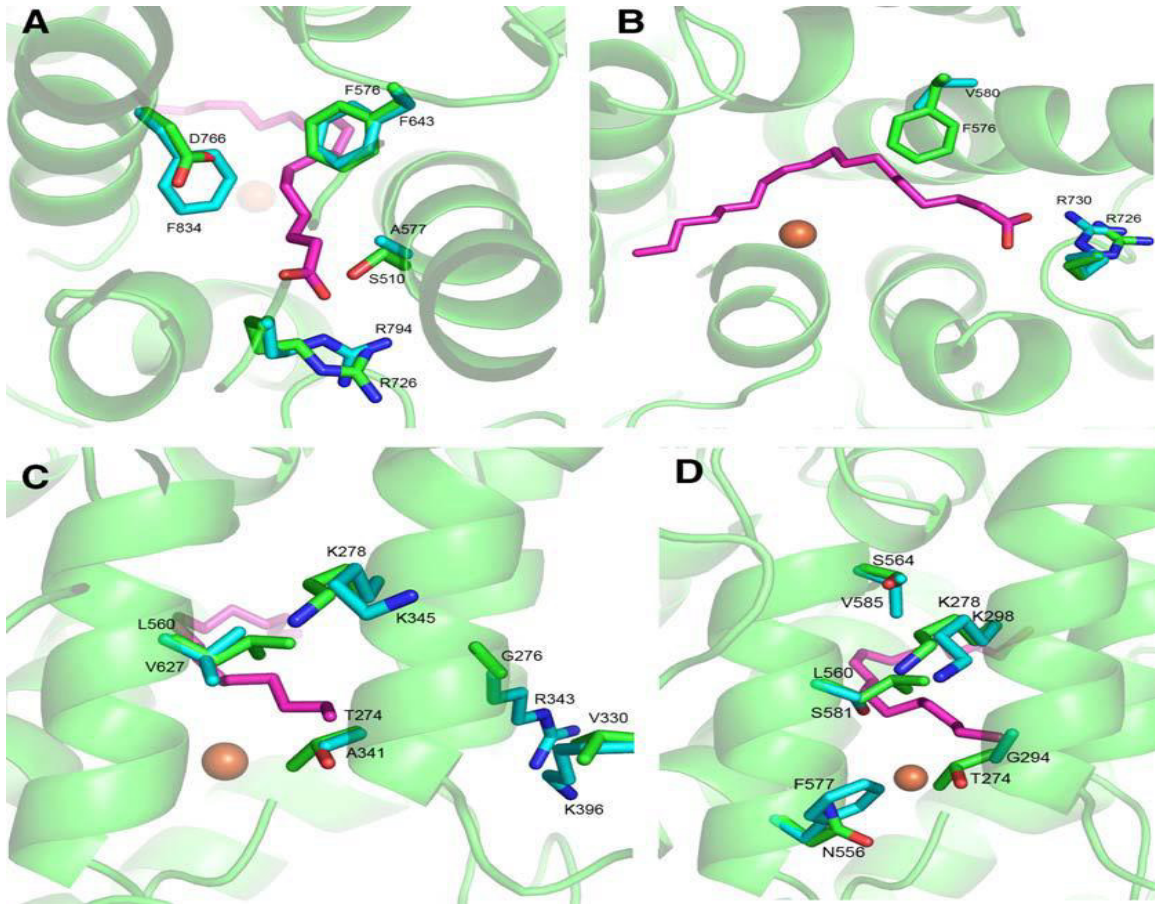


Рис. 3. Модели, демонстрирующие предполагаемый способ связывания обратно-ориентированного субстрата у нескольких растительных ЛОГ (Liavonchanka, Feussner, 2006).

Модели основаны на кристаллической структуре соевой ЛОГ-3, содержащей ее продукт 13-НРОДЕ. Ориентация боковой аминокислотной цепи соевой ЛОГ-3 показана зеленым цветом, а предлагаемая ориентация боковой цепи другой ЛОГ показана синим цветом, атом железа показан оранжевым, а обратно ориентированная ЖК пурпурным. (А) модель активного сайта AtLOX4. У ЛОГ-3 сои карбоксильный конец ЛК находится рядом с аргининовой стороной цепи (R726). Этот заряженный остаток защищен двумя остатками фенилаланина у AtLOX4 (F643 / 834). (В) Модель активного сайта ЛОГ клубня картофеля StLOX1. Здесь заряженный аргининовый остаток не экранируется валином (V580). Когда ЖК обратно ориентирована, отрицательно заряженная карбоксильная группа ЛК (красная) может образовывать солевой мостик с положительно заряженными атомами азота (синий) аргинина (R726). (С) Модель входа в субстрат-связующий карман AtLOX4. Когда ЖК находится в прямой ориентации (обратная к этой модели), она может взаимодействовать с остатком лизина во всех ферментах, но входная область более полярна в случае AtLOX4. Здесь ЖК может образовывать солевой мост по направлению к R343. (D) Модель входа в субстрат-связующий карман ЛОГ липидного тела огурца. Здесь входная область менее полярна по сравнению с AtLOX4 и соевой ЛОГ-3.

В Protein Data Bank доступны несколько кристаллических структур ЛОГ, в том числе арахисовой 15-LOX, соевой L-1 и L-3 и 15-LOX из ретикулоцитов кролика. ЛОГ большинства растений и животных формируют продукты с *S*-стереоконфигурацией. Продукты ЛОГ с зеркально отображенной *R*-конфигурацией также широко распространены и обнаружены у водных беспозвоночных, растений и людей (Gerwick, 1994).

1.1.2. Номенклатура и доступность субстрата

Растительные ЛОГ классифицируются относительно их позиционной специфичности оксигенации ЖК. ПНЖК окисляется либо на атоме углерода 9 (9-ЛОГ), либо на C-13 (13-ЛОГ) углеводородного скелета, приводя к двум группам соединений, (9S) -гидроперокси- и (13S) –гидропероксипроизводным.

Изоферменты растительных ЛОГ сгруппированы в два класса: тип-1 и тип-2. Ферменты, не имеющие специфической пептидной последовательности хлоропластного транзитного белка, обозначены как тип-1 ЛОГ или подсемейство I (47,5%). Несколько кДНК, изолированные из различных источников (пшеница, рис, овес, картофель, томаты и табак, *Arabidopsis*), несли данную последовательность. На основании идентичности N-терминального конца эти ферменты были идентифицированы как тип-2 LOX или подсемейство II, хотя они показывали только умеренное сходство их общей последовательности относительно друг друга (приблизительно 40%). Эти ЛОГ принадлежат к подсемейству 13-ЛОГ (Brash, 1999).

Согласно сходству общей последовательности их аминокислотных остатков (приблизительно 70 %), многие ЛОГ могут быть сгруппированы в одну генную семью. В практическом использовании номенклатура базируется на специфике фермента, действующего на его субстрат, например, 12-ЛОГ окисляет арахидоновую кислоту в углероде 12. Иногда указывается стереоконфигурация (12*R*-ЛОГ или 12*S*-ЛОГ). Отличие в длине цепи основных субстратов растений (линолеат и линоленат с 18 атомами углерода) и животных (арахидонат с 20 атомами углерода) приводит к соответствию растительной 13-ЛОГ 15-ЛОГ млекопитающих. Когда есть больше чем одна 12-ЛОГ в тех же самых видах, вначале называют тип ткани, где возник формирующий прототип, например, тромбоцитный, лейкоцитный или эпидермальный тип 12-ЛОГ (Yamamoto et al., 1997).

Большинство ЛОГ реагируют со свободными жирными кислотами (СЖК) и их этерифицированными производными (Feussner et al., 2001). Мембранные липиды также могут быть субстратом для образования продуктов ЛОГ. Арахидоновая и α -линоленовая (ЛнК) кислоты труднорастворимы при типичном физиологическом pH 7.4. При этих условиях СЖК, "выпущенные" из липидов мембран действием липазы, могут включаться в транспорт. Эти субстраты не всегда доступны для метаболизма ЛОГ. При тщательном изучении окисления связанных с мембраной свободных ЛК и ЛнК было обнаружено, что соевые L-1 и L-2 изоэнзимы не действовали на СЖК биологических мембран. В тех же самых экспериментах L-2 фермент (но не L-1) реагировал с мембранными эфирами (Maccagnone et al., 1994). Потенциальным ключом к пониманию механизмов, вовлеченных в

связывание субстрата, является то, что сохраненная область β -барреля ЛОГ показывает достоверную гомологию аналогичному домену, расположенному в С-терминале липаз млекопитающих. Подобно большинству ЛОГ, липазы локализованы в цитозоле и нуждаются в доступе к субстрату в гидрофобной окружающей среде мембран.

Некоторые ЛОГ растений и животных способны окислять эфирные липидные субстраты, такие как фосфолипиды, триацилглицерин (ТАГ) и сложные эфиры холестерина. Даже более сложные липид-белковые сборки, такие как биомембраны могут быть метаболизированы ЛОГ. Когда более сложные соединения, такие как метил-ЛК или трилинолеин используются в качестве субстрата, объяснить каталитический механизм становится сложнее, так как для идеального выравнивания липидов субстрата необходимы более структурные детерминанты внутри активного сайта. ЛОГ липидных тел проростков огурца и ЛОГ-2 из зерен ячменя были способны окислять ПНЖК, этерифицированные до неполярных липидов. ЛОГ липидного тела клеток огурца, экспрессируемая в *E. coli* или *in vivo* оксигенировала все три фрагмента ЛК трилинолеина (Feussner et al., 1998). Соевая ЛОГ-1 при оптимальном рН окисляла только до 28% от суммы трилинолеина, преобразуемого ЛОГ липидного тела. Более того, оксигенация трилинолеина соевой ЛОГ-1, в основном приводила к моно гидроксипроизводным, тогда как оксигенация ЛОГ липидного тела приводит к трем гидропероксипроизводным (Feussner et al., 1998).

Так как ТАГ не содержит свободных карбоксильных групп, никаких существенных различий не ожидалось при сравнении паттерна продуктов оксигенации ЛОГ липидного тела дикого типа и их 9-ЛОГ мутантов. Действительно, фермент дикого типа и все 9-ЛОГ мутанты проявляли активность 13-ЛОГ (Hornung et al., 1999). Кроме того, скорости оксигенирования трилинолеина, выявленные с помощью мутантов 9-ЛОГ, были сопоставимы с другими растительными ЛОГ. Более того, оксигенация трилинолеина мутантными ферментами, в основном приводила к моно-гидроксипроизводным (Hornung et al., 1999). Однако с помощью структурной модели эта субстратная специфичность может быть объяснена. Обычно объем субстрат-связующей полости значительно не отличается между разными ЛОГ растений. Это может означать, что все ферменты могут диоксигенировать один остаток ЖК за другим в сложных субстратах, таких как трилинолеин. Однако поверхностные заряды на входе в субстратные карманы заметно отличаются между различными ферментами. Во всех растительных ЛОГ остаток лизина хорошо сохраняется и может образовать солевой мостик к карбоксильной группе в случае прямой ориентации в 13-ЛОГ (рис. 3 С и D, синий и зеленые остатки K278, K345, K298). Однако в случае 13-ЛОГ,

типа AtLOX4 обнаружены два дополнительных полярных остатка: еще один лизин и аргинин (рис. 3 С, синие остатки R343, K396).

1.1.3. Филогенетическое древо липоксигеназ

Различные изоформы ЛОГ широко распространены у растений, грибов и животных. Подходящие субстраты, ПНЖК, содержащие *цис*-двойные связи, не обнаружены у большинства бактерий и дрожжей. В соответствии с отсутствием субстрата, не найдено ЛОГ у дрожжей и типичных прокариот (Siedow et al., 1991). Нет никаких достоверных данных о присутствии фермента у насекомых, хотя типичный продукт ЛОГ, получаемый с помощью арахидоновой кислоты - гидроксэйкозатетраеновая кислота (HETE) идентифицирован в примитивном насекомом *Thermobia domestica* (Ragab et al., 1991). Найдена ЛОГ в одноклеточной хлорелле, есть данные о кДНК последовательности ЛОГ у *Dictyostelium discoideum*. Высшие растения и животные содержат множество изоформ фермента (Siedow et al., 1991).

Филогенетическое древо разделяет растительные и животные ЛОГ и формирует несколько подгрупп в пределах каждого царства (Brash, 1999). Формирование специфического продукта ЛОГ не обязательно связано с близкими последовательностями. Например, соевый L-1 фермент, 15-ЛОГ, имеет только 25% идентичности любой относящейся к млекопитающим 15-ЛОГ, а две человеческие 15-ЛОГ идентичны на 35%. Близкие функциональные гомологи, показывая идентичность последовательности на 70-95 %, могут относиться к различным подгруппам.

Подробный филогенетический анализ с использованием членов семейства ЛОГ разнообразных видов растений проведен Feng et al. (2010). Это филогенетическое исследование последовательно показало, что растительные ЛОГ, представленные на сегодняшний день, можно разделить на два основных клайда или подсемейства (I и II), соответствующие двум типам ЛОГ растений, предложенным ранее в отношении отсутствия или наличия прогнозируемого транзитного пептида хлоропластов в белках ЛОГ.

В подсемействе I члены ЛОГ образовали две основные группы согласно их происхождению из двудольных или однодольных растений (рис. 4, G1 и G2). Интересно, что мы не наблюдаем в этом подсемействе дополнительную группу, содержащую ЛОГ из двудольных и однодольных растений. Возможно, что такие ЛОГ еще не определены. Альтернативная возможность заключается в том, что гены ЛОГ в подсемействе I подвергаются быстрой эволюции после дивергенции двудольных и однодольных растений 140-150 миллионов лет назад (Feng et al., 2010).

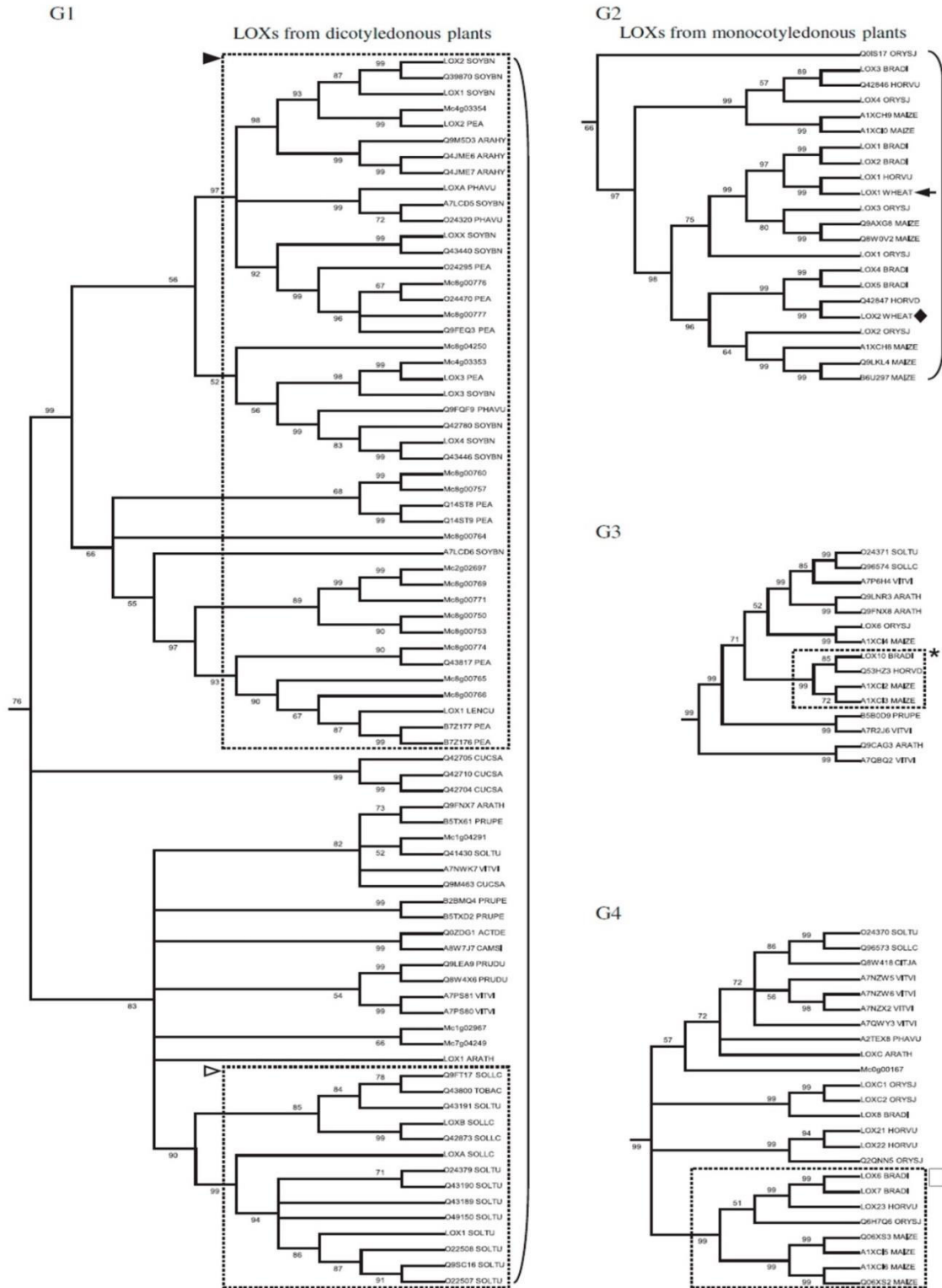


Рис. 4. Четыре основные группы, полученные путем анализа 143 ЛОГ модельных видов и сельскохозяйственных культур (Feng et al., 2010).

G1 и G2 получены из клайда I. G3 и G4 - из клайда II. Заполненные и пустые наконечники стрел указывают подгруппы, образованные ЛОГ из видов бобовых и цветковых растений, соответственно. Звездочка и круговые символы обозначают две однодольные ЛОГ подгруппы в G3 и G4, соответственно. Две ЛОГ пшеницы (обозначенные стрелкой или ромбом) были выведены из клонированных изоферментов ЛОГ *Triticum aestivum* TaLOX1 и TaLOX2.

В отличие от вышеприведенного обсуждения, две основные группы в подсемействе II состояли из представителей как двудольных, так и однодольных растений (рис. 4, G3 и G4). Знания о подсемействе II ЛОГ, как правило, очень ограничены, за исключением белка TS1, расположенного в G3. Структурную и функциональную основу, разделяющую группы G3 и G4 еще предстоит определить.

Еще одно интересное наблюдение состоит в том, что в некоторых филогенетических группах ЛОГ (например, G1, G3 и G4, рис. 4), оказались подгруппы, которые состояли из членов специфических семейств растений. Это особенно очевидно для большой подгруппы, содержащей ЛОГ, исключительно из шести видов бобовых в G1 (рис. 4, заполненный наконечник стрелы). Кроме того, интересно отметить, что формирование этой бобовой подгруппы коррелировало с присутствием многих дублированных генов ЛОГ на восьми хромосомах *M. Truncatula* (Shin et al., 2008). Возможно, что эта подгруппа ЛОГ могла развиваться для выполнения уникальной физиологической функции (функций) у бобовых. Белок TS1 с прогнозируемой активностью 13-ЛОГ и функционированием жасмонатной сигнальной системы (Acosta et al., 2009) располагался в подгруппе с тремя членами ЛОГ из *V. distachyon*, ячменя и кукурузы (рис.4, звездочка). Неизвестно, могут ли три дополнительных ЛОГ в этой подгруппе быть вовлечены в сигналинг ЖАК.

1.1.4. Пути метаболизма липидов у растений, инициированные липоксигеназой

ЛОГ инициируют синтез группы ациклических или циклических веществ, названных оксипипинами, которые являются продуктами окисления ПНЖК, с разнообразными функциями в растительной клетке. В случае окисления ЛК или ЛнК это ведет к двум возможным продуктам, 9- и 13- гидроперекисям ЖК, которые могут быть далее с участием ферментов семейства неклассических цитохромов P450 - CYP74 преобразованы в различные вещества, включая гидрокси-, окси- или кето-ЖК, дивиниловые эфиры, летучие альдегиды и растительный гормон ЖАК. (Grechkin 1998; Schaller, 2001; Porta, Rocha-Sosa, 2002; Wasternack, Feussner, 2018) (рис. 5).

Алленоксидсинтазный путь. Алленоксидсинтаза (AOS, CYP74A) дегидратирует гидроперекиси, образуя неустойчивые окиси аллена. AOS может быть как в растворимой, так и в мембраносвязанной форме. AOS является одним из наиболее важных ферментов метаболизма гидроперекисей ЖК у растений и не встречается у животных (Grechkin, 1998). Окиси аллена затем быстро гидролизуются с образованием кетолов. Физиологические пропорции кетолов мало изучены. Предполагают вовлечение этих оксипипинов в сигналинг. Известно, что γ -кетол(11E)-10-оксо-13-гидрокси-10-октадеценовая кислота проявляла

цитотоксическую активность. Кетоловый путь с участием AOS имеет как 13-ЛОГ, так и 9-ЛОГ (Grechkin et al., 2000). Окись аллена, соответствующая 13-гидропероксилиноленату, наряду с гидролизом претерпевает циклизацию с помощью алленоксидциклазы (АОС) с образованием циклопентенона 12-оксофитодиеновой кислоты (ОФДК), которая затем, в результате восстановления двойной связи в цикле β -окисления, превращается в ЖАК. Более подробно о биосинтезе ЖАК изложено в главе 1.1.12.1.

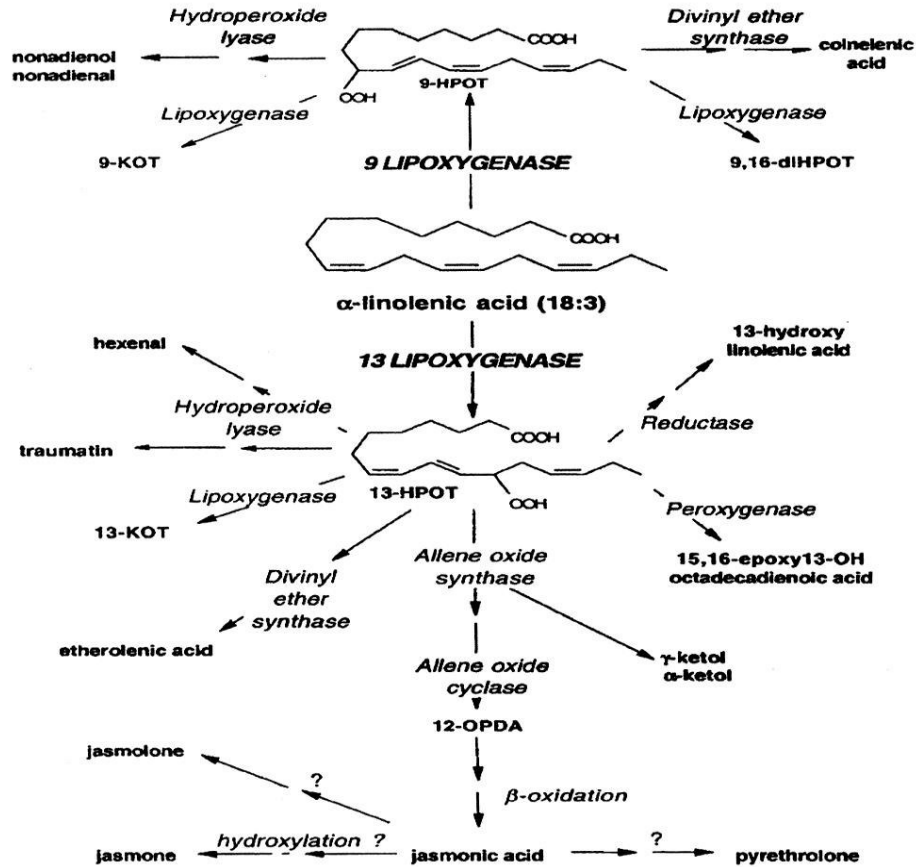


Рис. 5. Метаболические пути, инициированные растительными липоксигеназами (Porta, Rocha-Sosa, 2002).

Гидропероксидлиазный путь. Гидропероксидлиаза (HPL, CYP74B) катализирует превращение 9-гидропероксилинолеата в С9-альдегиды и С9-альдокислоты, а также 13-гидропероксилинолеата или 13-гидропероксилинолената в С6-альдегиды и С12-альдокислоты (Gardner, 1991). «Гетеролитическая» HPL расщепляет гидроперекись ЖК с образованием интермедиата. Гомолитическое расщепление проходит на уровне свободного радикала. «Гомолитическая» HPL расщепляет гидроперекись ЖК между углеродом и α -метиленовой группой.

Сведений о С9-соединениях относительно мало, а С12- и С6-соединения изучены хорошо. К 12- соединениям относятся 2(Z)-додецен-1,12-дикарбоксилловая (травматиновая)

кислота и 12-оксо-10(Е)-додеценовая кислота (травматин), которые являются раневыми гормонами. Они способны индуцировать деление клеток и образование каллуса в местах повреждения растения. 12-гидрокси-9(З)-додеценовая кислота является активным стимулятором роста (Grechkin et al., 1998).

С6-альдегиды обуславливают запах свежескошенной травы. 3(З)-гексаналь, 2(Е)- и 3(Е)-гексанали образуются уже через 15 секунд после механического повреждения листьев. Продукты восстановления С6-альдегидов - гексанолы также относятся к семейству С6-летучих соединений. К группе С9-соединений, обуславливающих запах свежего огурца, относят 2(Е)- и 3(З)-ноненали. ЛК под воздействием 9-НРЛ образует также 3(З),6(З)- и 2(Е),6(З)-нонадиенали. Известно о превращении летучих альдегидов в нелетучие соединения 4-гидрокси-2-гексеналь и 4-гидрокси-2-ноненаль, обладающие свойствами физиологически активных веществ (Grechkin et al., 1998).

Биосинтез дивиниловых эфиров. В этом пути ЛОГ участвует дивинилэфирсинтаза (DES, СУР74D). Дивиниловые эфиры содержат простую эфирную связь в углеводородных цепях. К ним относятся колнелевая и колнеленовая кислоты, а также эторолевая и этороленовая кислоты. Продукты этого пути могут быть ингибиторами ЛОГ (Grechkin et al., 1998).

Пероксигеназный путь. Гидроперекиси жирных кислот могут выступать как доноры кислорода в энзиматических соокислениях различных субстратов. Пероксигеназа (РОХ) - гемопротейн, который использует гидроперекиси ЖК как донор кислорода при эпоксидации двойных связей. РОХ контролирует гидропероксид-зависимое окисление 18- или 16-углеродных ПНЖК, превращая их в эпоксидные формы.

Образование гидрокси- и эпокси-производных ЖК при помощи РОХ – это путь синтеза мономерных субстратов гетерополимера кутина, основного компонента защитного покрова надземных органов растений – кутикулы. Основные продукты РОХ-пути – 18-гидроксиолеиновая кислота; 9,10-эпокси-18-гидроксистеариновая кислота и их 12,13-ненасыщенные аналоги; 9,10,18-тригидроксистеариновая кислота; 10,16-дигидроксипальмитиновая кислота и др. (Grechkin et al., 1998).

Двойное окисгенирование. Некоторые окисленные ЖК могут также быть субстратами для ЛОГ. В частности ими являются гидроперекиси или гидроксипроизводные ЖК, имеющие более двух двойных связей. Это приводит к двойному окисгенированию ЖК, в результате которого образуется, например, 9,16-дигидроперокси10(Е),12(З), 14(Е)-октадекатриеновая кислота (9,16-diНРОТ) и родственные соединения. Обнаружено, что 9,16-diНРОТ действует как ионофора, перенося ионы кальция снаружи внутрь клетки по

градиенту концентрации, может действовать как ингибитор дыхания в изолированных корнях пшеницы. Также 9,16-diHPT была обнаружена в проростках картофеля при ранении (Grechkin, 1998).

Окисление алленовых (β,γ -ненасыщенных) кетонов. Для действия ЛОГ не обязательно присутствие 1,4-пентадиенового фрагмента. Различные кетозайкозатетраеновые кислоты также могут быть субстратами ЛОГ. Целью действия ЛОГ в этих субстратах вместо 1,4-пентадиеновой системы является (3Z)-бутен-1-остаток, который окисляется в обычную ПНЖК (Grechkin, 1998).

Анаэробные реакции ЛОГ. В условиях дефицита кислорода ЛОГ производят ряд продуктов, а именно димеры ЖК, оксодиены, эпоксиалкоголи, сформированные посредством радикала ЖК или алкоксил-радикала. Некоторые ЛОГ могут производить эти продукты в присутствии кислорода (Gardner, 1991).

Окисление фурановых ЖК. Фурановые ЖК способны действовать как субстраты для ЛОГ и превращать фураны в диоксоены. При тестировании фосфотидилхолинов (ФХ), содержащих фурановые ЖК в качестве субстратов для соевой ЛОГ-1, оказалось, что фурановые остатки в ФХ, содержащих ЖК, окислялись ЛОГ-1 без дополнительного ко субстрата (Grechkin, 1998).

Окисление каротиноидов. Отдельные изоформы ЛОГ способны окислять каротиноиды (Lomnitski et al., 1993).

1.1.5. Видо-, време́не-, орга́но- и орга́нелло-специ́фичность растительных липоксигеназ

Метаболические пути ЛОГ имеют свою специфику у различных видов и в различных органах растений. Направления пути ЛОГ определяются регеоспецифичностью фермента, представленной в ткани, и доступностью ферментов гидропероксидного метаболизма. Имеются очевидные различия между метаболизмом ЛОГ в листьях и незеленых тканях. Листья растений проявляют преимущественно активность 13-ЛОГ. В то же время имеются исключения, например листья пшеницы обладают активностью 9-ЛОГ наряду с активностью 13-ЛОГ (Grechkin, 1998).

Направление ЛОГ- пути может изменяться в процессе роста и развития растения. Гены специфических изоферментов ЛОГ экспрессируются в прорастающих семенах (Holtman et al., 1996) и созревающих плодах (Griffiths et al., 1999).

Присутствующие в зрелых семенах и в проростках изоформы ЛОГ различны. Три изоформы ЛОГ присутствует в зрелом семени сои. Хотя эти изоформы исчезают в течение

первых дней прорастания, три новых изоэнзима синтезируются в семядолях (Kato et al., 1992).

У арахиса ген, кодирующий PnLOX1, экспрессируется в зрелых семенах, инфицированных *Aspergillus* spp. Продукты реакции, катализируемой PnLOX1, а именно (13)-гидроперокси-(9Z,11E)-октадекадиеновая (13-НРОD) и (9S)-гидроперокси-(10E,12Z)-октадекадиеновая кислота (9- НРОD), являются, соответственно, ингибитором и индуктором синтеза микотоксина, отводя роль в растительно-грибных взаимодействиях этой специфической ЛОГ (Bugow et al., 2000).

Зерна ячменя содержат, по крайней мере, два отдельных изофермента, LOX-1 (LOX-A) и LOX-2 (LOX-C), которые были очищены и охарактеризованы. Главное различие между этими изоферментами состоит в том, какие продукты они формируют, когда ЛК используется в качестве субстрата. LOX-1 образует 9-НРОD, в то время как LOX-2 образует 13-НРОD. LOX-2 присутствует на ранних стадиях развития зерна, а LOX-1 накапливается на конечных стадиях созревания зерна (Schuurink, van Mechelen, 1997). LOX-1 может присутствовать и в непророщенных зернах, в то время как LOX-2 обнаруживается только через 24 часа после прорастания семян (Holtman et al., 1996). Было показано также, что изоформа LOX-2 (LOX-C) активно использовала запасные липиды как субстрат для гидропероокисления (Holtman et al., 1996). Семенные изоферменты ячменя имеют цитозольную локализацию и классифицируются как тип-1 ЛОГ, в отличие от изофермента ЛОГ типа-2, который был найден связанным с хлоропластами в листьях ячменя (Shibata et al., 1994). Различия в направлении пути ЛОГ в отдельных органах и видах растений предполагают, что каждый путь должен иметь его собственное физиологическое обоснование.

При изучении изоэнзимов ЛОГ в разных органах различных растений обнаружены растворимая, цитозольная и вакуолярная формы фермента (рис. 6). В семядолях огурца, кроме растворимых ЛОГ, были обнаружены специфические формы ЛОГ в микросомальных и плазматических мембранах и липидных телах. Пять разных ЛОГ можно было различить в семядолях этиолированного огурца, тогда как было обнаружено более шести различных форм ЛОГ в цитозоле и в вакуолях листьев сои (Grechkin, 1998). Кроме того, биохимические и иммунохимические исследования показали присутствие ЛОГ в митохондриях гороха (Braidot et al., 2004). Митохондриальная ЛОГ была обнаружена как в растворимой, так и в мембраносвязанной форме. Так как митохондрии гороха были выделены из активно растущих трубчатых элементов, авторы предположили, что

присутствие ЛОГ в этих органеллах может быть связано с их деградацией во время ксилемной дифференциации.

Основные продукты реакций ЛОГ поступают из плазмалеммы и тилакоидных мембран хлоропластов, причем в хлоропластах присутствует, главным образом, 13-ЛОГ (Froehlich et al., 2001). В таких организмах, как шпинат, ячмень, помидор, картофель или арабидопсис ЛОГ локализована преимущественно в оболочках листовых хлоропластов. Большинство ЛОГ выявились в строме, но, по крайней мере, у шпината, значительная активность ЛОГ была обнаружена во фракции внешней оболочки хлоропластов (Blève и Joyard, 1996). В то время как ЛОГ могут быть локализованы как в строме, так и тилакоидах, два фермента ЛОГ - пути – AOS и HPL обнаружены только в тилакоидах, связанными с мембранами. Третий фермент пути ЛОГ – AOS слабо связан с тилакоидными мембранами и обнаружен также в строме (Farmaki et al., 2007).

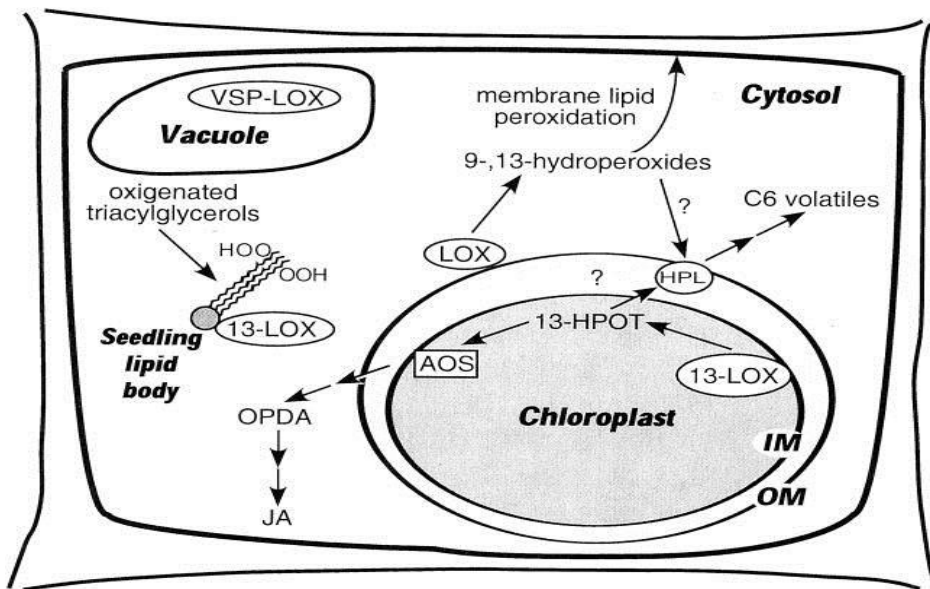


Рис. 6. Предполагаемая модель субклеточной локализации растительных липоксигеназ и других ферментов оксипинового пути (Porta, Rocha-Sosa, 2002).

IM – внутренняя оболочка хлоропласта; OM – внешняя оболочка хлоропласта; C6 volatiles – C6-летучие альдегиды; 13-HPOT – (10E, 12Z)-13-гидроперокси-10,12,15-октадекатриеновая кислота; OPDA – ОФДК, 12-оксо-10,15- фитодиеновая кислота; ЖАК – жасмоновая кислота; VSP-LOX – вегетативный запасной белок-LOX.

Внутриклеточная локализация ЛОГ дает ключ к пониманию физиологической функции различных ЛОГ (Feussner, Wasternack, 2002). Возможно, что разные ЛОГ могут иметь определенное местоположение, с временной дифференциацией их активности, которая может вносить вклад в оркестровку формирования гидропероксидов ПНЖК. По крайней мере, в двух случаях анализ пространственных и временных экспрессий ЛОГ липидных тел огурца и пластидных ЛОГ, привел к предположению физиологических функций, а именно участие в

катаболизме запасных липидов (Feussner et al., 2001) и образовании ЖАК (Wasternack, Hause, 2002). Кроме того, локализация ЛОГ в слоях пыльцевых стенок *L. undulatus* при клеточной деградации, проанализированная методом иммуногидравлической маркировки на молодом и вакуолизованном этапе пыльцы, обнаружила тесную связь ЛОГ с деградацией мембраны в запрограммированной клеточной гибели (Vardar et al., 2011).

1.1.6. Растительные оксипирины

1.1.6.1. Липоксигеназное и неферментативное образование оксипиринов

Оксипирины – многочисленный класс липидных метаболитов, полученных при окислении ненасыщенных ЖК (Mosblech et al., 2009). Из активных форм кислорода (АФК) у растений, только атомарный кислород и гидроксильные радикалы вступают в реакцию с ЖК, в то время как супероксид-анион и H_2O_2 не окисляют ЖК (Triantaphylides et al., 2008). Первый общий шаг оксипиринового биосинтеза – образование гидропероксидов ЖК может происходить как химическое (авто) окисление или как ферментативный процесс (Göbel, Feussner, 2009).

Реактивные гидроперекиси нескольких ЖК: ЛК (18:2), ЛнК (18:3) или раугеновой кислоты (16:3) образованы преимущественно ЛОГ, но могут также быть образованы α -диоксигеназой (α -DOX). Последовательное превращение гидроперекисей далее может происходить описанными ранее альтернативными метаболическими путями, которые инициируются ферментами AOS, DES, HPL, POX или эпокси алкоголь синтазой (EAS). Образующиеся оксигенированные производные включают фитогормон ЖАК, а также оксипирины с функцией характерных реактивных эпоксидов, α,β -ненасыщенных карбониллов или альдегидов (Mosblech et al., 2009).

Параллельно ферментативному превращению, которое приводит к образованию чисто оксипириновых энантиомеров, окислительный стресс и образование АФК может приводить к химическому (неферментативному) окислению мембранных липидов. Радикалы перокси-ЖК могут начинать цепь окислительных реакций, приводящих к образованию и накоплению рацемически свободных или этерифицированных гидропероксидов ЖК. Гидропероксиды ПНЖК и перокси-радикалы с более чем двумя двойными связями могут в дальнейшем быть окислены в процессе, образующем короткоживущие бициклические эндоперокси гидропероксиды, такие как фитопростаны. Многие окисленные липиды, образованные при окислительном стрессе, сохраняются как лиганды для белковой липидации и имеют глубокое влияние на паттерн генной экспрессии. Кроме того, они могут участвовать в окислительном повреждении клеток. Хорошо охарактеризованные продукты перокси-радикальной химии включают ди- и три-гидрокси ЖК, эпокси алкоholes, кетодиены и алкены. Некоторые из

тех же самых субстанций могут быть образованы также липоксигеназным метаболическим путем (Mosblech et al., 2009).

Клеточные функции оксипинов разнообразны также как широко разнообразие самих оксипинов. Биосинтез оксипинов высоко динамичен и встречается как конститутивно, так и как следствие разнообразных стрессов (Mosblech et al., 2009). Оксипиновые сигналы вовлечены в разнообразные сигнальные процессы и поэтому являются интегральными компонентами растительной сигнальной сети (Тарчевский, 2001).

1.1.6.2. Различные виды оксипинов в клетках растений

Многочисленные исследования показывают, что оксипины могут встречаться в различном виде в растительной клетке. Кроме свободных оксипинов, связанных с такими компартментами, как цитозоль, строма пластид или пероксисомальный матрикс, оксипины встречаются этерифицированными с рядом молекул (Mosblech et al., 2009).

Такие оксипины, как ОФДК или динорная ОФДК (dn-ОФДК), встречаются этерифицированными в комплексе с липидами. Производные пластидных галактолипидов, моногалактозилдиацилглицерол (МГДГ) и дигалактозилдиацилглицерол (ДГДГ), которые содержат ОФДК или dn-ОФДК вместо мотива жирного ацила, называются арабидопсидами (Göbel, Feussner, 2009; Mosblech et al., 2009). Образование ОФДК-содержащих галактолипидов после ранения или элисикации может быть вызвано быстрым внедрением вновь синтезированных ОФДК в пластидные липиды. Было показано, что ранение стимулировало накопление глицеролипидов, содержащих ОФДК и dn-ОФДК в листьях *Arabidopsis thaliana* (Buseman et al., 2006). Однако до сих пор неясно, являются ли оксипины, связанные с пластидным липидами, запасной формой сигнальных молекул, готовых быстро реализоваться при стрессе. Недавние данные показывают, что определяемое количество арабидопсидов было найдено только у некоторых видов арабидопсиса, что предполагает, что пул арабидопсидов у большинства растений может быть небольшим, или что эти липиды представляют частную адаптацию, найденную только у определенных видов (Nilsson et al., 2016).

Оксипины могут быть связаны с фосфолипидами, нейтральными липидами, сульфатом, глутатионом, углеводами и аминокислотами в форме эфиров или конъюгатов. Дивиниловый эфир ЖК колнелевой кислоты может быть этерифицированным с фосфолипидами; кето-, гидрокси-, также как гидроперокси- производные ЛК и ЛеК обнаружены в нейтральных липидах и фосфолипидах проростков огурца и подсолнечника. Однако наиболее известным примером служит ЖАК, которая может встречаться как метиловый эфир (МеЖАК), может быть связанной с гликозил эфирами, формировать амидо-

конъюгаты с аминокислотами или быть гидроксильной в ω - или ($\omega-1$) конце его боковой цепи, которая затем сульфонируется. Было показано, что конъюгат ЖАК и изолейцина (ЖАК-Иле) выступает как биологически активная форма ЖАК, которая взаимодействует с ЖАК-рецептором. Глутатионияция является другой формой модификации, обнаруженной, например, у ОФДК и (2E)-гексенала (Mosblech et al., 2009).

1.1.6.3. Реактивные электрофильные оксилипины

Многие оксилипины, образованные действием ЛОГ (гидроперекиси ЖК, α,β -ненасыщенные эпоксиды и α,β -ненасыщенные альдегиды и кетоны), могут быть классифицированы как реактивные электрофильные виды (RES) (Mueller, Berger, 2009). Такие RES, как малоновый диальдегид (МДА), гидроксиненаль, гексеналь и изопростаиноиды (фитопростаны), образуются неэнзимным путем. Несмотря на структурное разнообразие и биосинтетическое происхождение, общие виды биологической активности - индукция защитных генов, активация реакций детоксикации и ингибирование роста были документально подтверждены для реактивных электрофильных оксилипинов. Они имеют, по меньшей мере, два общих свойства - липофильность и тиоловую реактивность (Mueller, Berger, 2009).

RES показывают значительную химическую реакционную способность и ковалентно связываются с нуклеофилами тиолами и аминами. Реакционная способность тиол-реактивных оксилипинов, содержащих химически реактивный α,β -ненасыщенный карбонильный фрагмент, с белковыми тиолами, по меньшей мере, равна или выше чем H_2O_2 , которая принята в качестве ключевого признака потенциального внутриклеточного сигнала. Значительно более слабые электрофилы, такие как насыщенные кетоны и альдегиды (т.е. ЖАК, жасмонаты и гексеналь) не классифицируются как RES (Mueller, Berger, 2009).

α,β -ненасыщенная структура карбонила в оксилипинах является мягким электрофилом, что в биологических системах, предпочтительно, образует аддукты с принципиально мягкой нуклеофильной мишенью, которой являются остатки цистеина в GSH и белках. Даже относительно слабые электрофилы, такие как циклопентеноны, быстро связываются неферментативно со свободными тиоловыми группами восстановленного глутатиона (GSH). Кроме того, глутатион-S-трансфераза (GST), катализирует GSH конъюгацию / электрофильную инактивацию *in vitro* и *in vivo* (Davoine et al., 2006). Неферментативная, а также ферментативная реакция конъюгации с α,β -ненасыщенными карбонильными RES является обратимой, что приводит к pH-зависимому равновесию. При pH 7.5 и в равновесии с 1 mM GSH, около 75% ОФДК связано с GSH (Dueckershoff et al., 2008).

В противоположность этому, ковалентное связывание α,β -ненасыщенных карбонильных RES с цистеиновыми остатками в белках в физиологических условиях практически необратимо. Это приводит к изменению в структуре белка, что сопровождается необратимой потерей или усилением функции, увеличением восприимчивости к протеасомному протеолизу и денатурации (Stamatakis, Perez-Sala, 2006).

Вклад RES-оксилипинов в окислительно-восстановительную сигнализацию.

Тиоловая реактивность является свойством RES, а также реактивных видов кислорода и азота (АФК и АФА), что позволяет этим агентам модифицировать белки в естественных условиях. Тиол-модификация предположительно представляет ключевой механизм, участвующий в передаче сигнала. Метаанализ протеомных исследований показывает, что RES оксилипины, АФК и АФА, по-видимому, химически модифицируют подобный набор высокочувствительных белков, практически все из которых являются мишенями для тиоредоксина. Более того, большинство из этих белков являются редокс-регулируемыми, т.е. посттрансляционные модификации изменяют активность или функцию этих белков.

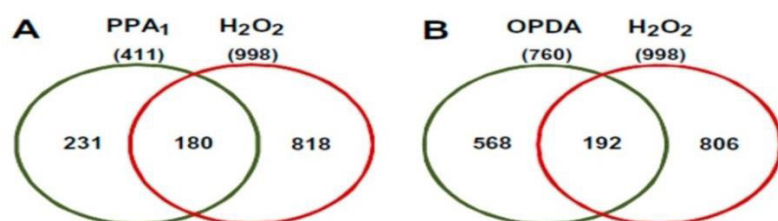


Рис. 7. Диаграмма, сравнивающая гены, регулируемые H₂O₂ и RES-оксилипинами (Mueller, Berger, 2009).

Сравниваются гены с двойной или более высокой индукцией в растениях *A. thaliana* через 4 часа после обработки 75 мМ ОФДК (OPDA) или А1-фитопростанами (PPA1) и 1, 3, 6 или 12 ч после обработки 5 мМ H₂O₂. (А) Число генов с двойной или более высокой индукцией по PPA1 и H₂O₂. (В) Число генов с двойной или более высокой индукцией OPDA и H₂O₂.

Белки, обогащенные тиоловыми группами, могут легко модифицироваться RES-оксилипинами и оксидантами. Протеомный анализ выявил, что компоненты цитоскелета (тубулин, актин и виментин) модифицируются циклопентеновыми оксилипинами, а также гидрокси ноненалем. Было установлено, что RES-оксилипинами могут быть модифицированы тиоредоксин, тиоредоксин-редуктаза, пероксиредоксин, супероксиддисмутаза и глутатион-S-трансфераза (Mueller, Berger, 2009).

На транскриптомном уровне, влияние RES-оксилипинов и АФК на генную индукцию существенно перекрывается, но явно отличается. На уровне регуляции генов, ответ *A. thaliana* на H₂O₂ и циклопентен-оксилипины заметно отличается (Рис. 7). Тем не менее, существует значительное перекрытие между генами, увеличение экспрессии которых

индуцируется H_2O_2 и A1-фитопростанами: 44% генов, увеличение экспрессии которых индуцируется A1-фитопростанами, индуцируются также H_2O_2 . В случае ОФДК, которая может дополнительно метаболизироваться в сигнальное соединение ЖАК, 25% от всех регулируемых генов также вызваны H_2O_2 . Отсюда следует, что H_2O_2 и циклопентен-оксилипиновый сигнал идут через некоторые общие механизмы, однако, дополнительные, более селективные механизмы, также должны быть в рабочем состоянии. Одним из важных отличий между H_2O_2 и RES, является то, что окисление тиолов с помощью H_2O_2 легко обратимо и биологически регулируется, в то время как окисление RES-оксилипинами является необратимым, или, по крайней мере, медленно обратимым (Vandenbroucke et al., 2008).

Липофильность RES-оксилипинов. Мембранная проницаемость является характерной чертой всех оксилипинов. Пластиды являются одним из основных источников RES-оксилипинов, которые могут диффундировать из пластид и достичь цитозоля и других компартментов. Протеомные исследования показали, что экзогенно вводимые RES-оксилипины могут диффундировать в клетки и даже внутрь клеточных компартментов, где они могут необратимо связываться с белками (Mueller, Berger, 2009). Липофильность является ключевым физико-химическим параметром, который позволяет молекулам связываться с гидрофобными карманами и гидрофобными активными сайтами белков. Сродство электрофилов в направлении белка-мишени, не только дает им возможность действовать в качестве субстрата или лиганда (механизм стыковки), но также может значительно увеличить скорости реакции с тиолами на сайте связывания (механизмы стыковки и замка) по сравнению со свободными тиолами в растворе. Следовательно, электрофильность и тиол-реактивность является общей чертой H_2O_2 /АФК и RES оксилипинов, в то время как липофильность является свойством, найденным только у RES-оксилипинов.

В отличие от RES-оксилипинов, H_2O_2 не обладает сродством к гидрофобным сайтам связывания. Высокое сродство белков для H_2O_2 обычно связывают с ее функцией субстрата для таких ферментов, как каталаза, GSH-пероксидаза и пероксиредоксин, которые быстро ее деградируют. Наоборот, RES-оксилипины и другие оксилипины могут выступать не только в качестве субстратов, но и в качестве лигандов для белков. В сигнализации H_2O_2 тиоловые переключатели могут включаться и выключаться. С другой стороны, RES-оксилипины будут либо исправлять неактивные сенсорные и / или белки-мишени, либо приводить в функционально активное состояние с помощью необратимой тиоловой модификации (Mueller, Berger, 2009).

Значение и предполагаемая функция RES-оксипинов. При нормальных условиях накапливается небольшое количество свободных RES-оксипинов. Однако, ранение и разнообразные биотические и абиотические стрессовые состояния, приводят к транзиторному сверхнакоплению свободных RES-оксипинов (Mueller, Berger, 2009). Реакционная способность является основным фактором, определяющим биологическую активность RES-оксипинов. Влияние на рост корней было зарегистрировано для RES-оксипинов ОФДК, травматина, 9-КОТЕ, 9- и 13-оксо-октадекадиеновой кислоты, гексенала и фитопростанов (Mirabella et al., 2008; Mueller et al., 2008). ОФДК и А1-фитопростан ингибируют прогрессирование клеточного цикла (Mueller et al., 2008; Pauwels et al., 2008). Поразительно, но также эти ингибирующие эффекты ОФДК и фитопростанов используются совместно с ЖАК (Swiatek et al., 2002). 2-гексеналь эффективно ингибировал рост нескольких бактерий, в то время как ОФДК и 13-КОТЕ были очень активны в ингибировании роста грибов. (Prost et al., 2005).

Несколько RES-оксипинов отрицательно влияют на фотосинтетическую активность. Малые электрофильные молекулы, такие как акролеин и метилвинилкетон, сильно повреждают фотосистему II. Кроме того, обработка ОФДК и 13-КОТЕ приводила к резкому снижению флуоресценции в фотосистеме II. В противоположность этому, не-RES-оксипины, такие, как ЖАК и гексеналь, слабо влияли на фотосинтетическую активность. Однако не все RES-оксипины ингибировали фотосинтез, для примера 2-гексенал, 9- и 13-оксо-диеновая кислота, а также травматин имели лишь слабые эффекты (Alméras et al., 2003).

Наиболее подробная информация о биологической активности оксипинов является доступной из исследований по регуляции экспрессии генов. (1) Несколько RES-оксипинов индуцируют экспрессию генов, связанных с детоксикацией. Кодированные белки включают ферменты цитохрома P450, глутатион-S-трансферазу, глюкозилтрансферазу, оксидоредуктазу и ABC транспортеров (Almeras et al., 2003; Loeffler et al., 2005; Mueller et al., 2008). Несколько генов, индуцированных А1-фитопростанами, также регулировались ОФДК и другими фитопростанами. Это предполагает, что высокая структурная схожесть ОФДК и фитопростанов коррелирует со сходством в их биологической активности. (2) Об увеличении экспрессии маркерных генов для биотических и абиотических стрессов сообщалось для нескольких RES-оксипинов, таких как ОФДК, гексеналь, метил винил кетон, МДА, А1- и В1-фитопростаны (Mueller et al., 2008). Кроме того, «повышающая» регуляция генов, связанных с вторичным метаболизмом была зарегистрирована для нескольких RES-оксипинов, в основном, гексенала, ОФДК, А1 и В1-фитопростанов, а также для не-RES

ЖАК. Вторичные метаболиты накапливались также при обработке этими оксипиринами (Loeffler et al., 2005).

Достоверно установлено, что эндогенные уровни RES-оксипиринов, образованных ферментативно путем ЛОГ и НРЛ (ОФДК, кето-ЖК, альдегиды), резко возрастают при различных абиотических и биотических стрессовых стимулах. Оба стресса часто ассоциируются со сверхпроизводством АФК с последующим свободно-радикальным перекисным окислением липидов (ПОЛ), что приводит к накоплению массива неферментативно образованных RES-оксипиринов - МДА, альдегидов, фитопростанов.

Одна из первых производимых реактивных молекул - H_2O_2 является одновременно электрофильным, токсичным окислителем и сигналом. У микроорганизмов на транскрипционном уровне, индуцированная перекисью водорода генная экспрессия характеризуется массивной индукцией антиоксидантных и детоксикационных генов. Удивительно, но ни один из антиоксидантных генов не индуцировался H_2O_2 у *A. thaliana* (Desikan et al., 2001). Было высказано предположение, что эукариотам предпочтительнее иметь конститутивный транскрипционный антиоксидантный ответ во время индуцированного H_2O_2 стресса, и что антиоксидантные белки регулируются на посттрансляционном уровне (Mueller, Berger, 2009).

После стадии RES-АФК в развитии стресса, следующая волна RES представлена RES-оксипиринами, которые, однако, накапливаются после тяжелого окислительного повреждения, уже имевшего место и / или после начала ферментативного ПОЛ. У *A. thaliana*, существует значительное перекрытие генов, индуцированных H_2O_2 и RES-оксипиринами. В отличие от H_2O_2 , реакция на несколько RES-оксипиринов, таких как МДА, ОФДК, А1- и В1-фитопростаны характеризуется индукцией некоторых антиоксидантных генов и массивной индукцией генов, вовлеченных во вторичный метаболизм, а также детоксикационных и стрессовых генов (Loeffler et al., 2005; Mueller et al., 2008).

Индукция вторичного метаболизма не является специфически RES-оксипириновой. ЖАК и множество структурно разнообразных природных и синтетических не-RES-оксипиринов также вызывают накопление вторичных защитных метаболитов. С другой стороны, индукция генов детоксикации, по-видимому, наиболее сильно стимулируется RES-оксипиринами (Mueller, Berger, 2009).

Таким образом, RES-оксипирины могут вызвать адаптивный ответ, который позволяет растениям лучше справляться с последствиями тяжелого окислительного и других стрессов (Mueller, Berger, 2009). Однако роль и функции RES-оксипиринов в адаптации к окислительному стрессу у растений мало исследованы, в то время как у животных

цитопротекторные механизмы, вызванные эндогенными продуктами ПОЛ/RES- оксилипинов и электрофильными ксенобиотиками, были четко установлены.

1.1.7. Участие липоксигеназы в мобилизации липидов при прорастании семян и стрессе

Мобилизация мембранных липидов. Липиды мембран постоянно обновляются, синтез и распад происходят одновременно. Значительное усиление мобилизации мембранных липидов происходит при прорастании семян, а также является одной из неспецифических реакций на различные стрессовые стимулы (Li et al., 2016).

Одним из ключевых аспектов адаптации растений к стрессу является изменение текучести мембраны. Мембранная текучесть зависит от двух ключевых аспектов липидного состава: степени ненасыщенности глицеролипидных молекул в жирных ацильных группах и относительной пропорции различных липидных классов в липидном бислое (Murakami et al., 2000). Наиболее распространенным изменением является регулировка между МГДГ и ДГДГ и различными комбинациями ЖК (Li et al., 2016).

Мобилизация мембранных липидов начинается с гидролиза сложноэфирных связей, осуществляемого фосфолипазами. Насыщенные ЖК взаимодействуют с HS-КоА, образуют ацил-КоА и затем используются для β -окисления, в ходе которого освобождаются молекулы ацетил-КоА, которые используются в митохондриальном дыхательном метаболизме или для синтеза новых ЖК, некоторых аминокислот, олиго- и полипептидов и других соединений. Освободившиеся ненасыщенные ЖК очень быстро метаболизируются реакциями оксигенирования по местам двойных связей, катализируемых, в основном, ЛОГ, с образованием гидропероксидов ЖК и их дальнейшим превращением. При экзогенном введении меченых по карбоксилу С линолевой или линоленовой кислот уже через 20-30 минут в них оставалась незначительная доля радиоактивности, а основная доля обнаруживалась в составе 35-45 оксигенированных производных исходных ЖК (Тарчевский, 2001).

В мембранах листьев *A. thaliana* были определены 17 видов оксилипин-содержащих фосфатидилглицеринов, МГДГ и ДГДГ (Buseman et al., 2006). Оксилипины из этих полярных сложных видов липидов включали ОФДК, dnОФДК, 18- и 16-углеродные кето-кислоты. В неповрежденных листьях уровни этих оксилипин-содержащих сложных липидов были низкими, однако в течение первых 15 минут после ранения, уровни ОФДК- dnОФДК МГДГ, ОФДК- ОФДК МГДГ и ОФДК- ОФДК ДГДГ, каждая из которых содержит две оксилипиновые цепи, увеличивались в 200 - 1000 раз. В противоположность этому, уровни ОФДК-гексадекатриеновая кислота МГДГ, ЛнК(18:3) - dnОФДК МГДГ, ОФДК-18:3 МГДГ и

ОФДК-18:3 ДГДГ, содержащие по одной оксилипиновой цепи, возрастали от 2 до 9 раз. Быстрое накопление высоких уровней галактолипидов, содержащих ОФДК-ОФДК и ОФДК-dnОФДК в раненых листьях согласуется с тем, что эти липиды являются первичными продуктами пластидного липоксигеназного биосинтеза оксилипинов.

Водный дефицит вызывал окислительную модификацию мембранного пула липидов у сои. Увеличение содержания конъюгированных гидропероксидов в этерифицированных ЖК в липидном бислое, сопровождалось усилением транскрипции двух изоферментов ЛОГ (Maccarrone et al., 1994).

Быстрая мобилизация мембранных липидов является важным шагом для защиты при биотическом стрессе. Быстрые изменения в мембранных липидах происходят у растений на месте инфекции. Zhu с соавторами (2012) сообщили о быстрой мобилизации липидов мембран пшеницы при атаке гессенской мухи - биотрофного насекомого, которое взаимодействует с пшеницей на основе «ген-для-гена». Мембранные липиды были мобилизованы липолизом. Высвобожденные из мобилизованных мембранных липидов ЖК затем были преобразованы в защитные сигнальные молекулы, такие как 18:3 и 18:1 ЖК и ОФДК и, потенциально, в усиливающие клеточную стенку компоненты, в том числе воск кутин (Khajuria et al., 2013).

α - и β -окисление ЖК мембран – это путь обеспечения энергетических нужд клетки, а β -окисление – еще и путь снабжения субстратами процессов синтеза. Оксигеназные реакции превращения мембранных ненасыщенных ЖК с участием ЛОГ – это метаболический путь образования регуляторных веществ, активирующих сложную систему настройки на клеточном и организменном уровне для осуществления программы развития растения и/или адаптации к изменившимся условиям окружающей среды (Тарчевский, 2001).

Мобилизация запасных липидов эндосперма. Растение сохраняет запасной материал в своих семенах, в основном в виде ТАГ, чтобы обеспечить рост проростков следующей генерации, пока растение не будет способно фотосинтезировать. В зрелом семени ТАГ хранятся в плотно упакованных липидных телах сферической формы со средним диаметром 1 μm . Этот размер не изменяется во время развития семян, а накопление липидов сопровождается увеличением количества липидных тел. Липидные тела семян стабилизированы белками (например, олеозинами), состыкованными с фосфолипидным монослоем, окружающим матрицу ТАГ. Первым шагом в мобилизации липидных тел должно быть разрушение этого барьера в целях содействия доступа липаз к запасным ТАГ (Gupta, Bhatla, 2007).

У растений наиболее значима пероксисомальная система β -окисления. В отличие от млекопитающих, растения могут использовать пероксисомальные ферменты для катаболизма длинноцепочечных ЖК вплоть до ацетил-КоА. При определенных условиях, таких как прорастание масличных семян, растения также дифференцируют специализированные пероксисомы, называемые глиоксисомами. В дополнение к β -окислительному пути, глиоксисомы содержат ферменты глиоксилатного цикла, отсутствующего у животных. Растения могут использовать глиоксилатный цикл для снабжения углеводного синтеза ацетил-КоА, продуцируемым β -окислением. ЖК, высвобождаемые из ТАГ, могут быть деградированы с помощью β -окисления в глиоксисомах.

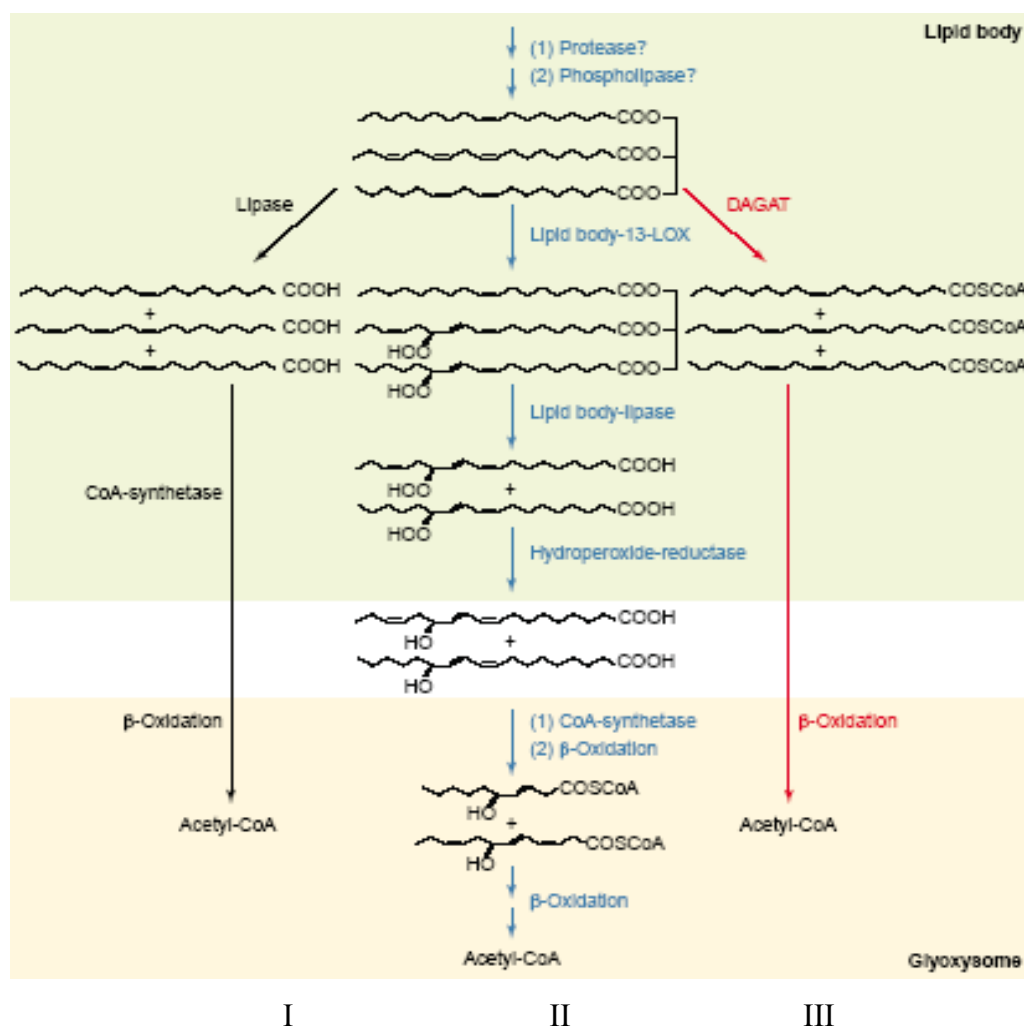


Рис. 8. Метаболические пути разрушения запасных липидов в процессе прорастания (Feussner et al., 2001).

I – гипотетическая CoA-синтетаза-зависимая деградация запасных липидов;

II – 13-ЛОГ (LOX)-зависимая деградация ПНЖК;

III – классическая глиоксимальная и пероксисомальная деградация ЛК.

Feussner с соавторами (1995; 2001) представили новую модель разрушения запасных липидов в процессе прорастания маслосодержащих семян, которая отличается от классической схемы пероксисомальной или глиоксисомальной деградации ЛК (рис. 8). В этой модели катализируемое ЛОГ окисление запасных липидов предшествует гидролизу ТАГ. После разрушения мембран липидного тела 13-ЛОГ окисляет запасные ТАГ до соответствующих гидропероксипроизводных, которые затем расщепляются липазой. В результате свободные гидроперокси-полиенольные жирные кислоты претерпевают восстановление до гидрокси-соединений. Финальным шагом в катаболизме окисленных запасных липидов является глиоксисомальное β -окисление (Meuer, 2013).

Эта модель показывает получение восстановленных эквивалентов и ацетил-КоА для синтетических процессов роста семян. Метаболическая схема липидной мобилизации в прорастающих семенах масличных растений предполагает новую биологическую роль специфических 13-ЛОГ. Этот фермент является ярлыком запасных липидов, способствуя их деградации специфическими триацилглицероллипазами. Существуют также доказательства того, что мобилизации запасных липидов путем ЛОГ в огуречных семядолях способствуют фосфолипазы пататин-типа (Rudolph et al., 2011).

И классический ЛОГ-независимый, и ЛОГ-зависимый пути метаболизма липидов существуют параллельно. Вероятно, различные виды растений предпочитают разные пути. В случае кукурузы, сои и рапса предпочтительнее классический ЛОГ-независимый путь. Однако у огурца, подсолнечника и льна предпочтительнее ЛОГ-зависимый путь (Feussner et al., 2001). У ячменя, изоформа ЛОГ-2 также утилизировала запасные липиды (Holtman et al., 1997). В зерне оливковой пыльцы путь мобилизации запасных липидов, опосредованный 99-кДа-ЛОГ, является главным по важности для прорастания. (Zienkiewicz et al., 2013). Эти пути липидного метаболизма, стабильно происходящие в процессе прорастания семян, отличаются от липидного разрушения у зрелых растений, являющегося неотъемлемой частью их развития.

Липидный транспорт и липид-переносящие белки. Концептуально, механизмы транспорта липидов могут быть классифицированы как везикулярный и невезикулярный. Последний включает в себя межмембранное движение липидов и внутриклеточный транспорт липидов - флиппинг и перенос липидов через контактные участки мембраны (Li-Beisson et al., 2013). Везикулярный транспорт играет центральную роль в транспорте мембранных белков и определенных липидов между органеллами секреторным путем, через почкование и слияние мембранных везикул.

Для длинно-дистанционного транспорта растения используют флоэму. Некоторые липид-белковые комплексы транспортируются в другие ткани для хранения, использования, модификации или деградации. Другие служат в качестве мессенджеров и модулируют активность факторов транскрипции (Guelette et al., 2012). Липиды в диапазоне сложности от простых, таких как ЖАК, до фитостероинов и более сложных гликолипидов, были найдены во флоэме рапса, периллы, арабидопсиса, капусты, томатов и табака. ЖАК, как было показано, транспортируется во флоэме в ответ на патогенную инфекцию (Lough, Lucas, 2006). Три фермента, которые необходимы для биосинтеза ЖАК (ЛОГ, АОС и АОС) также присутствуют в ситовидных элементах флоэмы, что указывает на то, что его синтез происходит, по крайней мере, частично, в пределах элементов сит (Hause et al., 2003).

Одним самых многочисленных и повсеместно распространенных классов липидных переносчиков в царстве растений является класс неспецифических липид-трансферных белков (nsLTP). Это низкомолекулярные, как правило, основные белки. Были определены два мультигенных семейства: тип I LTP (LTP1, 9 кДа) и тип II LTP (LTP2, 7 кДа). Они имеют несколько структурных особенностей, наиболее ярким является общий мотив из восьми остатков цистеина, которые образуют четыре дисульфидных мостика (Douliez et al., 2000). У обоих типов LTP, эти дисульфидные связи стабилизированы α -спиралью, образующей гидрофобную полость или туннель, которые могут связывать разные типы липидов и гидрофобных молекул, за исключением стероидов (Douliez et al., 2000; Marion et al., 2003).

Рекомбинантный LTP1 табака был способен загружать ЖК и ЖАК. Этот LTP1 связывался со специфическим сайтом в плазматической мембране, ранее охарактеризованным как элиситин-рецептор, и, как показано, участвовал в активации защиты растений (Buhot et al., 2004). Однако ЖАК, а не ЛК, модулировала связывание LTP1 табака на элиситин-рецепторе плазматической мембраны. Образование комплекса LTP1-ЖАК приводит к конформационному изменению LTP1, что облегчает его узнавание сайтом высокого сродства, т.е. комплекс LTP-ЖАК биоактивен и узнаваем рецептором элиситином (Osman et al., 2001b). Локализованное экзогенное применение комплекса LTP1-ЖАК на растение табака способствовало длинно-дистанционной защите против распространения *P. parasitica*, в то время как LTP1-ЛК комплекс, LTP1, ЛК или ЖАК сами по себе были очень слабо эффективны в этом отношении.

Более 30 различных LTP были найдены в геноме *A. thaliana*. Оба типа, LTP1 и LTP2, находятся в семенах зерновых культур и, в основном, сосредоточены в алейроновом слое (Douliez et al., 2000). LTP массово секретировались во время соматического эмбриогенеза клеток винограда или моркови и могли быть вовлечены в механизмы развития растений

(Sterk et al., 1991; Coutos-Thèvenot et al., 1993), а также могли быть задействованы в транспорте мономеров кутина во время формирования слоя кутикулы (Sterk et al., 1991). Было показано, что межклеточные LTP могут действовать и внутриклеточно как жирнокислотные челноки между липидным телом и глиоксисомой при прорастании семян (Pagnussat et al., 2012).

Результаты нескольких исследовательских групп указывали на роль LTP в механизмах защиты растений, поэтому LTP были классифицированы как патоген-связанные белки, под деминацией PR-14 (Van Loon, van Strien, 1999). Экспрессионный анализ показал очевидную эффективность пшеничного LTP1 в резистентности к мучнистой росе (*Blumeria graminis f.sp. tritici*, Bgt), а также показал, что LTP1 и LTP2 пшеницы участвуют в раннем ответе на солевой и воддефицитный стресс (Li et al., 2006).

В отличие от nsLTP, которые широко распространены в растительном мире, липидные переносчики пуриноидолины являются специфическими белками семян *T. aestivum* (Douliez et al., 2000). Как и LTP, пуриноидолины (ПИН, PIN) являются основными и обогащенными цистеином белками. Гомологичные белки и кодирующие их гены были найдены у овса, ячменя, ржи, но не встречаются у тетраплоидной пшеницы, риса, кукурузы, арабидопсиса (Douliez et al., 2000).

ПИН, как и LTP, демонстрируют высокое содержание спиралей, а их цистеиновые пары аналогичны восьми цистеинам LTP2. Два дополнительных цистеина, заключены в обогащенной триптофаном области ПИН с образованием дисульфидной связи (Douliez et al., 2000) так, чтобы этот триптофан-богатый регион мог сформировать петлю. Эти сходства спаривания цистеина и содержание спирали укрепляет тот факт, что LTP и пуриноидолины могут проявлять сходное строение с α -спиральными белками других растений, которые имеют аналогичный цистеиновый мотив и строение, такими как гидрофобный белок сои (Baud et al., 1993), пшеничный ингибитор α -амилазы (Oda et al., 1998) и 2S запасной белок семян (Rico et al., 1996). В большинстве исследований ПИН были обнаружены в эндосперме и/или алейроновом слое, но не в корнях и гипокотилиях проростков (Dubreil et al., 1998). В эндосперме мягкой пшеницы, ПИН_а и ПИН_б встречаются в белковой матрице и вокруг гранул крахмала, окруженных белковой матрицей (Dubreil et al., 1998; Feiz et al., 2009b).

Роль ПИН в защите растений была предложена на основе наблюдения, что очищенные ПИН проявляют *in vitro* противогрибковые (Dubreil et al., 1998) и антибактериальные (Capparelli et al., 2006) свойства. Предполагается, что Trp-богатый домен ПИН отвечает за их антибактериальные и противогрибковые свойства (Miao et al., 2012), так как он показывает высокое сродство к полярным липидам, которые являются строительными блоками

бактериальных и грибковых мембран. Считается, что ПИН взаимодействуют с этими мембранными липидами и нарушают регулярную мембранную двухслойную структуру. Тр-богатый домен содержит относительно высокие уровни триптофана и аргинина, которые являются общими остатками в мощных противомикробных пептидах (Chan et al., 2006).

1.1.8. Некоторые растительные липоксигеназы и их функции

У сои (*Glycine max*) идентифицированы восемь различных изоферментов ЛОГ. Наиболее изучены три изофермента из семян: LOX-1, LOX-2 и LOX-3, состоящих соответственно из 838, 865 и 859 аминокислотных остатков и имеющих молекулярную массу 94, 97 и 96,5 кДа. Изоформы LOX-4, LOX-5 и LOX-6 активны в период прорастания семян. LOX-1 – 6 находятся в растворимой форме и не связаны с мобилизацией липидов во время прорастания (Wang et al., 1999).

Имеются сведения о существовании двух мембраносвязанных и двух растворимых ЛОГ плодов томата. Все четыре изофермента имели рI 4.8 – 5.0 и молекулярную массу около 97 кДа. Очищенные растворимые изоформы LOX-1 и LOX-4 составляли 96% от общей активности ЛОГ и формировали исключительно 9-гидроперекиси. В зеленых плодах доминировала изоформа LOX-1. Зрелые плоды, напротив, имели низкое содержание изоформы LOX-1 и содержали в основном LOX-4 (Smith et al., 1997). В дополнение к возможной защитной функции эти плодовые ЛОГ могут быть вовлечены в синтез С6-альдегидов, ответственных за аромат плодов томата, или в процесс деградации тилакоидных мембран в течение перехода от хлоропласта до хромопласта (Griffiths et al., 1999).

Среди шести ЛОГ арабидопсиса, LOX2 была ответственна за формирование большей части ЖАК в первый час после ранения (Glauser et al., 2009), в естественном и индуцированном темнотой старении, а также при стрессе, вызванном сорбитолом (Danışman et al., 2012). AtLOX2 была идентифицирована как elf4E-связывающий белок, предполагая трансляционный контроль через активность LOX2 (Freire et al., 2000). LOX2 также участвует в ПОЛ, что происходит при абиотических и биотических стрессах. LOX2-опосредованная двойная оксигенация пластидных галактолипидов, приводящая к арабидопсидам была зарегистрирована при патогенной инфекции, но не несла ответственности за патоген-индуцированное увеличение ЖАК (Zoeller et al., 2012). Интересно отметить, что формирование липидных пероксидов сопровождалось синтезом азелаиновой кислоты, сигнального соединения, играющего главную роль в иммунном ответе (Zoeller et al., 2012). В *lox2-1* мутанте, однако, ЖАК и ЖАК-Иле синтезировались в первые 5 мин при ранении (Glauser et al., 2009), что указывает на активность других 13-ЛОГ. Кроме того, подробный

анализ протеома ЖАК-индуцированных белков у *A. thaliana* показал заметное увеличение белка LOX3 (Gfeller et al., 2011). Было выявлено, что все четыре 13-ЛОГ изоформы способствуют образованию ЖАК, по крайней мере, в ответ на ранение (Chauvin et al., 2013). Остальные ЛОГ *A. thaliana*, LOX1 и LOX5, являются 9-ЛОГ и не участвуют в биосинтезе ЖАК. Их продукция активна в местных и системных механизмах защиты против бактериальных патогенных микроорганизмов (Vicente et al., 2012).

В этиолированных семядолях огурца было обнаружено пять различных ЛОГ (Feussner, Kindl, 1994). Три растворимые ЛОГ отличались друг от друга по размеру и форме. Активность этих ферментов определялась в широком диапазоне рН – от 3 до 7. Два изофермента были идентифицированы как мембранные белки: ЛОГ, частично связанная с липидными телами, и микросомальная ЛОГ. Анализ образования продуктов реакции показал, что ЛОГ липидных тел и микросомальная ЛОГ четко отличаются друг от друга и от растворимых форм.

У гороха было найдено и описано несколько различных активных изоформ ЛОГ, дифференциально регулируемых во времени- и органо-специфичной манере. Две из них, LOX-2 и LOX-3, являются транскриптами тРНК в период семенной зрелости и сходны с соевыми LOX-2 и LOX-3 изоферментами (Domoney et al., 1999). В молодых растущих тканях была обнаружена изоформа LOX-g. Предполагается, что эта изоформа фермента вносит вклад в клеточное деление в период интенсивного роста главного стебля путем перестройки фосфолипидного содержания клеточной мембраны (Rodriguez-Conceptcion et al., 1996). LOX-1 была обнаружена в клубеньках корней гороха и кормовых бобов (Perlick, Pühler, 1993). Так как LOX-1 экспрессируется и в инфицированных, и в неинфицированных корнях, ее роль не ограничивается только растительно-микробным взаимодействием.

Есть данные о присутствии мРНК и белков ЛОГ в клубеньках нескольких видов бобов (Porta et al., 1999). У *P. vulgaris* мРНК и белки ЛОГ обнаружены главным образом в клубеньках в растущей стадии, и их уровни уменьшались в клубеньках, при достижении полного размера. Антиген ЛОГ найден в клубеньковой паренхиме и в неинфицированных клетках центральной ткани клубеньков. Наиболее вероятно, эта ЛОГ связана с развитием клубеньков.

Во время вегетативного роста листья и молодые органы сои накапливают три полипептида с молекулярной массой 27, 29 и 94 кДа, составляющие класс белков, называемых вегетативные запасные белки (VSP). Некоторые факторы, такие как удаление проводящей ткани, водный дефицит, ранения, свет, ЖАК и блокирование листового флоемного экспорта увеличивают уровень экспрессии и накопления VSP. Частичное

аминокислотное секвенирование и кросс-связывание с антителами ЛОГ одного из этих белков (VSP94), с молекулярной массой 94 кДа показали, что VSP94 высоко гомологичен белковой семье ЛОГ (Tranbarger et al., 1991). Обширные иммуноцитохимические данные показывают, что этот VSP94/ЛОГ предпочтительно экспрессируется в паравенальных клетках мезофила и субклеточно локализуется в вакуолях. Таким образом, растительная ЛОГ может быть бифункциональным белком, способным функционировать энзиматически в гидроперекислении липидов и обладать многими свойствами других вегетативных запасных белков, играя роль во временном запасании азота во время вегетативного роста (Tranbarger et al., 1991).

Изучение трансгенных растений, экспрессирующих ген антисенсорной клубне-специфической ЛОГ (POTLX-1), дало некоторые ключи к пониманию ее функции (Kolomiets et al., 2001). POTLX-1 принадлежит к классу ЛОГ-1 картофельных ЛОГ, которая экспрессируется в клубнях и корнях, имеет преобладающе 9-ЛОГ активность и вовлечена в контроль роста и развития клубня.

В фосфолипидном монослое липидных тел проростков маслосодержащих семян различных растений была обнаружена специфическая 13-ЛОГ, которая была способна окислять этерифицированные линолеатные остатки без предварительного действия ферментов, гидролизующих липиды (Feussner et al., 2001). Из липидных тел огурца была клонирована кДНК, кодирующая эту 13-ЛОГ. Иммуноцитохимическое изучение семядолей огурца обнаружило специфическую локализацию фермента в мембране липидных тел на ранних стадиях прорастания. Сходные результаты были получены, когда субклеточная локализация этого фермента анализировалась в развивающихся семенах трансгенного табака (Hause et al., 2000). Синтезированный на свободных рибосомах фермент первоначально оказывается в цитозоле, но затем переносится на мембрану липидного тела, где подходит к фосфолипидному монослою. N-терминальный β -баррел - домен ЛОГ содержит целевой сигнал, который может быть важным для процесса транслокации. Связанный с мембраной липидных тел фермент усиливал линолеат-окисляющую активность приблизительно в 4 раза (Feussner, Wasternack, 1998). Биохимические характеристики, субклеточная локализация, энзиматические пропорции и отдельные функции этой специфической 13-ЛОГ показывают, что этот фермент отличается от других ЛОГ, присутствующих в проростках. ЛОГ липидных тел огурца имеет более высокую молекулярную массу, чем другие ЛОГ типа-1 (~ 100 кДа), щелочной оптимум pH и позиционную специфичность: ЛК специфично превращается в 13(S)-гидрокси-производные (13S)-HPOD (Feussner, Wasternack, 1998). *In vitro* очищенный рекомбинантный

фермент способен к окислению триолеата до одно-, дву- и три-окисленных триацилглицерол- производных. Тот факт, что эти вещества были обнаружены у проростков огурца, подсолнечника, календулы и льна говорит о том, что этот фермент вовлечен в процессы прорастания.

Таблица 1. Гены ЛОГ у растений: регеоспецифичность и субклеточная локализация соответствующих ЛОГ и экспрессия их мРНК (Porta, Rocha-Sosa, 2002)

Plant	LOX Name	Accession No. ^a	Regiospecificity ^b	Expression ^c
Arabidopsis	Lox1	L04637		G, P, ABA, J, L, R, In
	Lox2 ^d	L23968		L, J, W, G, In
Peanut (<i>Arachis hypogaea</i>)	PnLOX1	AF231454	13/9 (70/30%)	S, J, W, P
Cucumber (<i>Cucumis sativum</i>)	CSLBLOX ^e	CAA63483	13/9 (84/16%)	G
	CRLOX-1	U36339	13/9 (54/46%)	R
Soybean (<i>Glycine max</i>)	L-1	J02795	13/9 (95%/5%)	S, Ws
	L-2	J03211	13/9 (50/50%)	S
	L-3	X06928	13/9 (50/50%)	S, Ws
	LOXA ^f	U04785		R, L, G, J, Au, Po, VSP
	LOXB ^f	U50075		L, Fl, W, VSP, Po
	LOXC ^f	U26457		L, VSP, Po
Barley (<i>Hordeum vulgare</i>)	LOXD ^g	U04526	13/9 (80/20%)	R, G, L, Au, Po, VSP, J
	LoxA ^f	L35931		S, G, J, W
	LoxC ^f	L37358		S, G, J, Ws
	Lox2:Hv:1 ^d	U56406	13 (89/11%)	J, SA
Lentil (<i>Lens culinaris</i>)	Lox1	X71344	13/9 (82/18%)	
Tomato (<i>Lycopersicon esculentum</i>)	LoxA	U09026		F, G, J
	LoxB	P38416		F, Et
	LoxC ^d	U37839		F, Et
	LoxD ^d	U37840		L, W, J, Sy, Fl
Tobacco (<i>Nicotiana tabacum</i>)	Lox1	X84040		E, P, J
Rice (<i>Oryza sativa</i>)	L-2	X64396	13	G
	Lox2:Os:1	D14000	13	P
	RCl-1 ^d	AJ270938	13 (99/1%)	BTH, INA, J
Common bean (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	LOX1	X63525		Fl, St, L
	PvLOX2	U76687		N, L, R, W, J, Fl, S
	PvLOX5	AF234983		N, R
Pea (<i>Pisum sativum</i>)	LOX1:Ps:1	AF098918		G, R, N
	LOX1:Ps:2	X78580	13/9 (88/12%)	S
	LOX1:Ps:3 ^f	X78581	13/9 (44/66%)	S
Potato (<i>Solanum tuberosum</i>)	POTLX-3	U60201		J, Et, P
	H1	X96405	13	L, W, J, ABA
	H3	X96406	13	L, W, J, R, ABA
	T8	X95513	9	T, R, W, J
	lox1:St:2	Y18548	13/9	L, J, P, E
	LOX5	AF039651	9	T
Broad bean (<i>Vicia faba</i>)	VfLox1	Z73498		N, R

a – как архивировано в GenBank; **b** – активность определялась из кДНК, экспрессированной в *Esheria coli*; **c** – аббревиатура: АВА- АБК, ВТН-бензо(1,2,3)триадиол-7-карботионовая кислота, Е-элиситор, Et-этилен, F-плод, Fl-цветок, In-цветение, G-прорастание, INA-2,6-дихлоролсоникотиновая кислота, J-жасмонаты, L-лист, N-клубенок, P-патоген, Po-стручок, R-корень, S-семя, St-стебель, Su-системин, T-клубень, VSP-вегетативный запасной белок, W-ранение, Ws-водный стресс;

d – хлоропласты; **e** – липидные тела; **f** – цитозоль; **g** – вакуолярная ЛОГ.

Известна отрицательная роль некоторых изоформ ЛОГ в пищевой промышленности. Многие летучие альдегиды, образовавшиеся путем липоксигеназного окисления липидов, вызывают характерные запахи фруктов, овощей и продуктов, полученных из них. Известно, что удаление специфической ЛОГ (изоформа L-2) из семян сои и гороха приводит к

улучшению их качества путем уменьшения образования летучих альдегидов, вызывающих нежелательные запахи в замороженных продуктах, и улучшает их потребительскую ценность (Davies et al., 1987).

Большой практический интерес в пивоварении вызывает изоформа LOX-1 ячменя, катализирующая образование 9-НРОD, которое образует портящие пиво соединения, такие как транс-2-ноненаль и тригидрокси-октадеценвая кислота (ТНОD). Транс-2-ноненаль известен как главный компонент «картонного» запаха в стареющем пиве. ТНОD оказывает нежелательное действие на качество пива в виде нарушения стабильности пены и запаха. Была создана LOX-1 нуль-популяция, которая может стать сильным средством улучшения запаха и стабильности пены без изменения других показателей и процесса пивного производства (Niroda et al., 2005).

Гены ЛОГ многих растений клонированы и секвенированы (табл. 1). Различные гены ЛОГ дифференцированно регулируются в процессе развития растений и в ответ на различные стрессовые стимулы (Porta, Rocha-Sosa, 2002).

1.1.9. Известные изоферменты липоксигеназы пшеницы

Из муки эндосперма зерновок твердой пшеницы были выделены и частично очищены три изоформы, обладающие липоксигеназной и каротин-обесцвечивающей активностью (Hsieh, Mc Donald, 1984). Изофермент L-1 имел оптимумы рН активности ЛОГ 10.2 и 11.4, а также проявлял активность РОХ с оптимумом рН 4.8. Эта РОХ может быть или частью молекулы L-1, или очень тесно с ней связана, так как она не была отделена с помощью карбогидратной аффинной хроматографии. Изоформы L-3 и L-2 имели оптимум активности ЛОГ при рН 4.8 и оптимум рН 6.6 для разрушения β-каротина. Эти две изоформы, вероятно, ответственны за потерю каротиноидных пигментов во время приготовления теста.

Из семолины твердой пшеницы была выделена и очищена до мономерной структуры еще одна изоформа ЛОГ, биохимические характеристики которой несколько отличаются от трех ранее описанных изоформ (Barone et al., 1999). Молекулярная масса этой ЛОГ составляет около 95 кДа. Оптимальная активность фермента была при рН 6.8 в случае, когда ЛК использовалась в качестве субстрата и при рН 5.2 для разрушения β-каротина.

В листьях пшеницы *T. aestivum* обнаружены три изоформы ЛОГ с молекулярной массой 92, 100 и 103 кДа. Максимальная активность их определялась в интервале рН 5.5 – 6.0, а продуктами, образованными из ЛК и ЛеК, были преимущественно 9-гидроперекиси. Была показана дифференциальная индукция изоформ ЛОГ под воздействием элиситоров корневых грибов, хитин-олигосахаридов, хитозана и МеЖАК. Иммуноблотинг с

использованием антител против ЛОГ показал индукцию активности изоферментов с молекулярной массой 92 и 103 кДа после обработки элиситором Pgt (*Puccinia graminis* Pers f. sp. *tritici* Erikss., Henn.). МеЖАК, хитин-олигосахариды и хитозан приводили к значительному увеличению активности изоформы с молекулярной массой 100 кДа, которая в незначительном количестве определялась также и в контрольных образцах. Вероятно, жасмонаты не участвуют в реакционном каскаде при действии элиситоров Pgt (Bohland et al., 1999).

Из зародышей семян мягкой пшеницы были выделены, очищены и охарактеризованы три основные изоформы ЛОГ (L-1, L-2 и L-3) и минорный изофермент (L-a) (Shiiba et al., 1991). Очищенный белок, соответствующий изоформе L-3, составлял почти 50% от общего липоксигеназного белка, тогда как изоформа L-a составляла только 5%. Для всех изоформ было получено значение молекулярной массы около 110 кДа. Изоформы имели сходные профили активности. Изоформа L-3 показала высокую активность в широком диапазоне pH (оптимум pH 4.5 – 6.0). Оптимум активности изоформ L-2 и L-3 был при pH 5.5. При изучении влияния каждой из очищенных изоформ на хлебопекарные свойства мягкой пшеницы оказалось, что главная роль в улучшении реологических параметров теста принадлежит изоформе L-3.

1.1.10. Жасмонат-зависимая защитная сигнализация

Жасмонаты - это класс растительных гормонов, которые играют важную роль в ответе на стрессоры. Они действуют на экспрессию генов, чтобы замедлить рост и перенаправить метаболизм на производство защитных и восстанавливающих повреждения молекул. Эти ответы являются системными и оказывают отрицательное воздействие на урожай, что делает ЖАК очень активной областью исследований. Жасмонаты имеют существенные функции, особенно при размножении растений, старении листьев и в ответ на многие биотические и абиотические стрессоры, взаимодействуя со многими другими растительными гормонами (Larrieu, Vernoux, 2016).

1.1.10.1. Биосинтез жасмонатов

Биосинтетический путь ЖАК, также называемый октадеканойдный метаболический путь (исходной точкой является α -линоленовая кислота) имеет место в трех субклеточных компартментах: сначала в хлоропласте, затем пероксисоме, и, наконец, цитоплазме (рис. 9). Самый первый шаг состоит в высвобождении ЛНК из галакто- и фосфолипидов, локализованных в мембране хлоропласта с помощью активности фосфолипаз (PLA), которые включают DAD1 (Defective in Anther dehiscence 1) у *A. thaliana* (Ishiguro et al., 2001). Было

показано участие галактолипазы A1 (GLA1) из *Nicotiana attenuata* в формировании ЖАК в листьях и корнях, (Bonaventure et al., 2011a). Таким образом, очевидно, что есть и метаболический путь и стимуло-специфические липазы, действующие при образовании ЖАК.

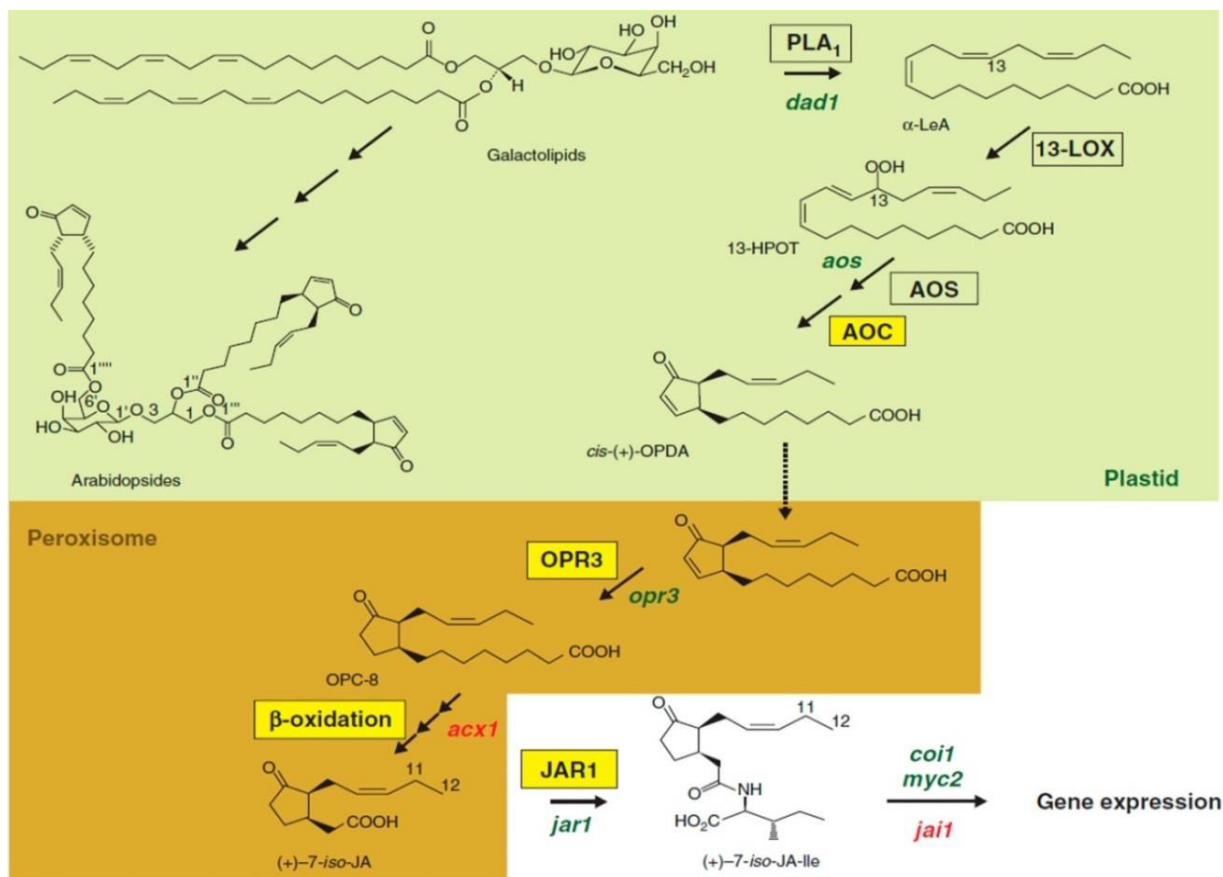


Рис. 9. Синтез жасмоновой кислоты и ее конъюгата с изолейцином из α-линоленовой кислоты галактолипидов (по Wasternack, Hause, 2013).

acx1 - ацил-СоА-оксидаза1; AOC - алленоксидциклаза; AOS - алленоксидсинтаза; coi1- нечувствительный к коронатину1; dad1 - задержка раскрытия пыльников1; 13-HPOT - (13S)-гидропероксиоктадекатриеновая кислота; jai1 - нечувствительная к ЖАК1; JA - жасмоновая кислота, ЖАК; JA-Ile- конъюгат ЖАК с изолейцином, ЖАК-Иле; JAR1 - ЖАК-аминокислотосинтаза; α-LeA, α-линоленовая кислота, ЛнК; 13-LOX - 13-липоксигеназа; myc2 - bHLZip транскрипционный фактор MYC2; цис-(+)-12-OPDA - цис-(+)-12-оксофитодиеновая кислота, ОФДК; OPR3 - OPDA-редуктаза3; OPC-8 - 3-оксо-2-(2-пентенил)-циклопентан-1-октановая кислота; PLA1 - фосфолипаза A1. Ферменты, которые были получены в кристаллизованном виде, показаны в желтых боксах. Выделены ступени, ослабленные у мутантов *Arabidopsis* (зеленым) или томатов (красным).

Впоследствии окисление ЛнК 13-ЛОГ приводит к образованию 13-HPOT. Два разных семейства ферментов, AOS и AOC, последовательно конвертирует 13-HPOT в устойчивое промежуточное соединение цис (+) - оксофитодиеновая кислота (цис-ОФДК). Следующие шаги биосинтеза ЖАК происходят в пероксисоме. Как цис-ОФДК транспортируется к этому субклеточному компартменту в значительной степени неизвестно. Пока известен только один ген COMATOSE, локализованного в пероксисоме белка класса транспортеров АТР

связывающей кассеты (ABC), связанного с транспортом ЖАК в этот субклеточный компартмент.

В пероксисоме цис-ОФДК восстанавливается с помощью ОФДК-редуктазы (OPR), а затем подвергается трем циклам β -окисления ацил-СоА оксидазой (ACX), приводя к образованию ЖАК. Затем ЖАК экспортируется неизвестным путем к цитоплазме, где она может быть модифицирована несколькими ферментами. JAR1 (ЖАК-аминокислотосинтетаза) катализирует заключительный шаг в формировании биологически активного соединения ЖАК. Первоначальным продуктом в биосинтезе ЖАК является (+) - 7-изо-ЖАК, а его конъюгат с изолейцином (ЖАК-Иле) является лигандом COI1-JAZ корцепторного комплекса (Wasternack, Hause, 2013). Пять транспортеров АТФ-связывающей кассеты G (ABCG) были идентифицированы как переносчики жасмоната в ядро (Wang et al., 2019).

1.1.10.2. Жасмонатное восприятие и сигнализация

SCF комплексы. Убиквитин-протеасомная система является центральным регулятором в гормональном восприятии и сигнализации растений. Она состоит из Skp1 / Cullin/F-box (SCF) комплекса, который функционирует как убиквитин E3 лигаза, где белок F-box распознает белок-мишень, который убиквитинируется и затем подвергается протеосомной деградации. Для восприятия и ЖАК-сигнализации COI1 действует как F-box белок (Xie et al., 1998). Одним из самых интересных аспектов исследования растительных гормонов является то, что некоторые из них воспринимаются с помощью SCF комплекса с аналогичными модулями, где белок F-box имеет гормональную специфичность.

JAZ белки. JASMONATE ZIM DOMAIN (JAZ) белки были случайно обнаружены в 2007 году (Chini et al., 2007) и признаны в качестве мишеней SCFCOI1 комплекса. Деградация JAZ способствует высвобождению положительно действующих транскрипционных факторов (ТФ), таких как MYC2, который связывается с ЖАК-реагирующими элементами, находящимися в промоторах ЖАК-отзывчивых генов, инициируя тем самым транскрипцию (Chini et al., 2007). Среди компонентов «upstream», RING-типа убиквитин лигазы, RING DOMAIN LIGASE3 (RGLG3) and RGLG4, были идентифицированы в качестве модуляторов ЖАК/ЖАК-Иле-сигнализации в ответ на различные стимулы (Zhang et al., 2012b). В виде «downstream» компонентов были идентифицированы общие ко-репрессоры TOPLESS (TPL) и TPL-родственные белки и их взаимодействие с адаптерным белком «Novel Interactor of JAZ» (NINJA) (Pauwels et al., 2010).

Кроме того, при поиске мишеней JAZ были обнаружены многочисленные новые ТФ и белки, взаимодействующие с JAZ (Pauwels, Goossens, 2011). В дополнение к F-бокс белку

COI1, с JAZ взаимодействуют: 1) ТФ bHLH (MYC2, MYC3, MYC4, GL3, EGL3 и TT8); 2) ТФ R2R3 MYB (PAP, GL1, MYB 21 и MYB 24); 3) ТФ других гормональных путей (EIN3, EIL, GAI, RGA и RGL1); 4) корепрессорные белки (NINJA, TPL, HDA6 и HDA19) и 5) JAZ-белки, вследствие их гомо- и гетеро-димеризации (Pauwels, Goossens, 2011). У *A. thaliana* было обнаружено 12, а у пшеницы 14 JAZ белков (Wang et al., 2017). Семейство белков JAZ является членом суперсемейства факторов транскрипции TIFY, и члены семейства имеют два консервативных функциональных домена: TIFY (также известный как ZIM) и Jas (также известный как CCT_2). Jas-домен опосредует взаимодействие с ТФ и необходим для репрессивной активности JAZ белков (Chini et al., 2007). ZIM-домен, отвечает за димеризацию JAZ и взаимодействие с NINJA (Pauwels, Goossens, 2011).

Комплекс SCFCO11-JAZ. В настоящее время общепринято, что для восприятия ЖАК необходим комплекс SCFCO11-JAZ. Поскольку за идентификацией JAZ последовала кристаллизация корецепторного комплекса COI1-JAZ (Sheard et al., 2010), то теперь стало возможным понять механизм восприятия ЖАК-Иле. В этом комплексе, домен Jas белков JAZ взаимодействует с COI1, если лиганд ЖАК-Иле присутствует. (+)-7-изо-ЖАК-Иле является наиболее биологически активным лигандом.

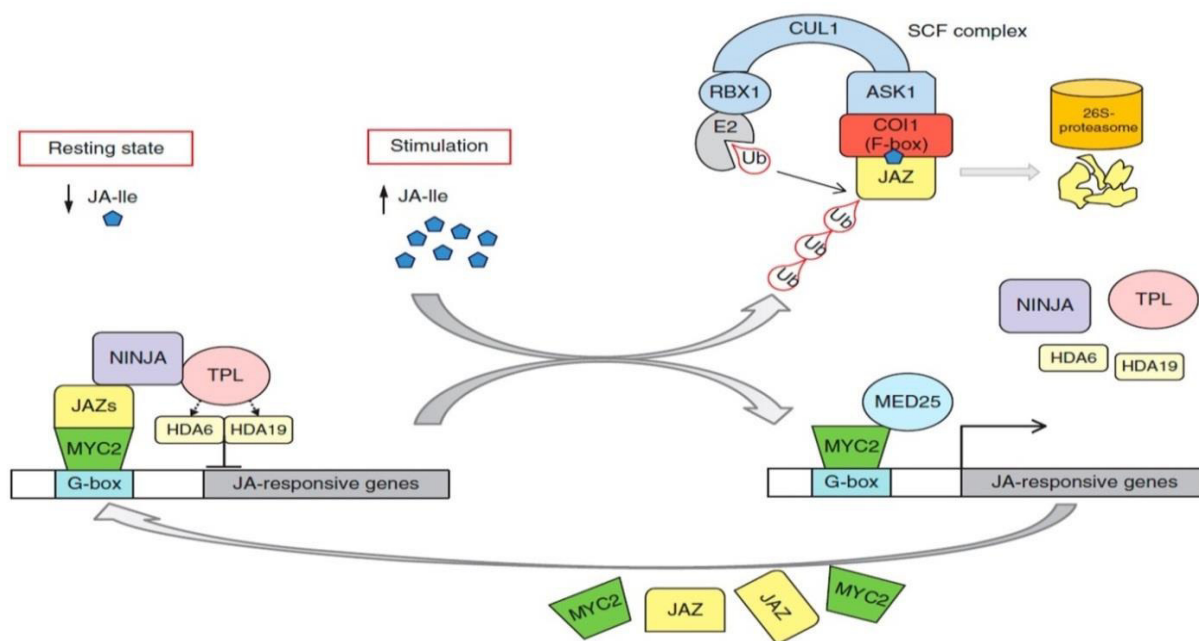


Рис. 10. Восприятие ЖАК через механизм ко-рецепторного комплекса COI1–JAZ ЖАК - индуцированной экспрессии генов (Wasternack, Hause, 2013).

JA- ЖАК; JA-Ile –ЖАК-Иле; ASK1 - гомолог SKP1 (S-phase kinase-associated protein 1) у арабидопсиса; CUL - CULLIN; E2 –убиквитин-конъюгирующий фермент; MYC2 - bHLHzipТФ; RBX - RING-H2 белок; SCF-complex – комплекс, состоящий из Skp1, Cullin-1 и белка F-box; Ub – убиквитин.

В состоянии покоя (рис.10, слева, низкий уровень ЖАК-Иле) связывание MYC2 с G-box в промоторе ЖАК-чувствительного гена не активирует транскрипцию из-за связывания

репрессоров белков JAZ с MYC2. Корепрессоры Novel Interactor of JAZ (NINJA), связанные с JAZ, и TOPLESS (TPL) подавляют транскрипцию через HISTONE DEACETYLASE 6 (HDA6) и HDA19.

При стимуляции (рис.10, справа, высокий уровень ЖАК-Иле) JAZ рекрутируются COI1 и подвергаются убиквитинизации и последующей деградации протеасомой 26S. Впоследствии MYC2 может активировать транскрипцию ранних ЖАК-чувствительных генов, кодирующих JAZ и MYC2. Транскрипция опосредуется субъединицей 25 комплекса Медиатор (MED25) (Cevic, 2012). Белки JAZ, за исключением нескольких, рекрутируют ко-репрессоров, так как не имеют мотива EAR, который требуется для прямой репрессии (Pauwels et al., 2010). Для JAZ5, JAZ6, JAZ7 и JAZ8, несущих мотив EAR, возможно прямое связывание с TPL без NINJA.

JAZ мишени - ТФ, опосредующие ЖАК-специфическую экспрессию генов. Как уже упоминалось выше, полнота передачи сигналов ЖАК поддерживается в значительной степени, множественностью отрицательного регулирования белками JAZ и корепрессорной активностью ТФ, преимущественно действующих как позитивные регуляторы, которые связываются со специфическими элементами промоторов ЖАК-отзывчивых генов, что приводит к отдельно действующему пути через сингулярную или комбинаторную активность ТФ. Среди них MYC2, принадлежащий к bHLH домен-содержащим ТФ, является наиболее известным ТФ и главным регулятором в большинстве сигнальных путей ЖАК, участвующих в защите и развитии у *Arabidopsis* (Kazan, Manners, 2013). MYC2 опосредует: 1) антагонистическую координацию двух ветвей в защитных ответах против травоядных и патогенных микроорганизмов; 2) создание индуцированной системной устойчивости полезными почвенными микроорганизмами; 3) эффектор-опосредованное подавление врожденного иммунитета в корнях; 4) регулирование перекрестной сигнализации с салициловой кислотой (СК), АБК, ГК и ауксином (ИУК); 5) связь между ЖАК и другими сигнальными путями, такими как световой, фитохромный и циркадных часов; и 6) регулирование развития, в том числе формирование боковых и придаточных корней, времени цветения и системной приобретенной устойчивости.

MYC3 и MYC4 гомологичны и тесно связаны с MYC2 (Fernandez-Calvo et al., 2011). Двойные и тройные мутанты трех MYC и сверх-экспрессоры MYC3 и MYC4 показали слабую активность MYC3 и MYC4 в торможении роста корней по сравнению с MYC2, но активное участие в экспрессии генов раннего ответа. Мутационный анализ, однако, показал, что регуляторный эффект MYC2 был усилен MYC3 и MYC4, иллюстрируя другой уровень модуляции в передаче сигналов ЖАК и совместную активность нескольких ТФ.

Все три ТФ MYC имеют две важные области: 1) домен взаимодействия с JAZ (JID) рядом с N-концом; и 2) консервативный TAC-подобный домен на C-конце, который имеет важное значение для гомо- и гетеро-димеризации MYC (Fernandez-Calvo et al., 2011). Домен JID, встречающийся в MYC2, MYC3 и MYC4 также присутствует в других bHLH-ТФ, таких как GL3, EGL3 и TT8, которые, как известно, участвуют в образовании антоцианов и иницировании трихом, и было показано, что они взаимодействуют с JAZ1 и JAZ8 (Qi et al., 2011).

Мужская стерильность является наиболее известным фенотипом биосинтетических и сигнальных ЖАК мутантов *Arabidopsis*, таких как *coil* и *opr3* (Browse, 2009a, c). При анализе транскриптома развивающихся тычинок *opr3* растений, обработанных ЖАК, происходила повышающая регуляция ТФ MYB21 и MYB24. В дальнейшем, оба были идентифицированы в качестве мишеней JAZ1 и JAZ8 (Wasternack, Hause, 2013).

1.1.10.3. Взаимодействие между ЖАК и гормонами других сигнальных каскадов

Этилен (ЭТ) - ЖАК. В сигнальном пути ЖАК, существует параллельная ветвь упомянутой выше ветви MYC, с участием фактора ответа ЭТ1 (ERF1), с маркерным геном PDF1.2 (Pieterse et al., 2012). Механизм синергетического взаимодействия сигнальных путей ЖАК и ЭТ хорошо известен для защиты от вредителей и некротрофных патогенов растений (Pieterse et al., 2012). Однако важность перекрестной сигнализации ЖАК и ЭТ в абиотическом стрессе была разработана только недавно (Kazan, 2015).

Гибберелловая кислота (ГК) - ЖАК. При развитии тычинок, гормоны действуют синергично. Белки DELLA, накапливаясь при дефиците ГК, предотвращают биосинтез ЖАК через подавление экспрессии DAD1 и ЛОГ (Cheng et al., 2009). Это ведет к дефициту ЖАК, что приводит к мужской стерильности путем репрессии ЖАК-зависимой экспрессии генов существенных факторов транскрипции MYB21 и MYB24. При отсутствии ЖАК/ЖАК-Иле, регуляция на понижение экспрессии генов этих ТФ даже ослабляется ингибированием активности MYB21 и MYB24 через связывание с JAZ (Cheng et al., 2009). В противоположность этому, антагонистическое взаимодействие между сигнальными путями ЖАК и ГК происходит при росте растений и защитных ответах, которые сами по себе антагонистические, потому что защита растений происходит за счет торможения роста (Hou et al., 2010; Kazan and Manners, 2012). Пять белков DELLA у арабидопсиса, которые активны в передаче сигналов ГК, аналогичны JAZ белкам (Schwechheimer, 2012). Интересно отметить, что все эти белки могут взаимодействовать с JAZ через домен Jas, тем самым конкурируя с MYC2 в связывании JAZ (Hou et al., 2010). В этой модели ГК вызывает деградацию DELLA, тем самым позволяя JAZ1 связываться с MYC2, что приводит к

подавлению сигнализации ЖАК, в то время как в отсутствие ГК белки DELLA существуют и связываются с JAZ, приводя к депрессии MYC2 (Hou et al., 2010). Очевидно, что существует гибкий баланс обоих негативных регуляторов DELLA и JAZ, что поддерживает антагонизм роста надземных частей растений и их защиту.

Индоллилуксусная кислота (ИУК) - ЖАК. Было описано взаимодействие между ИУК и ЖАК во время роста и развития растений, включая такие явления, как удлинение, опадение и навивка усика, а также реакции на ранение (Saniewski et al. 2002). Факторы ответа ИУК ARF6 и ARF8 функционируют в развитии цветка вместе с ЖАК-зависимыми ТФ MYB21 и MYB24 (Reeves et al., 2012). В корнях, известное ингибирование роста жасмонатами происходит через взаимодействие с сигнальным путем ИУК (Chen et al., 2011). ЖАК может увеличить уровни ИУК посредством индукции экспрессии *ASA1*, который кодирует первый фермент в биосинтезе ИУК. Кроме того, существует ИУК-индуцированная экспрессия *JAZ1*, которая может иметь функцию интегратора во взаимодействии ИУК-ЖАК, приводя к регуляторной петле в поддержании сигнализации ИУК и ЖАК (Grunewald et al., 2009).

Tiryaki и Staswick (2002) показали, что сигналы, активируемые ЖАК и ИУК, могут взаимодействовать как антагонистически, так и синергически. Сообщалось о взаимодействии сигнальных путей ЖАК и ИУК во время индуцированного ЖАК образования боковых корней с участием фактора ответа ЭТ 109 (ERF109) (Cai et al., 2014). Jiang и соавторы (2014) сообщили, что ТФ WRKY57 у арабидопсиса действует как узел конвергенции в ЖАК- и ИУК -опосредованном сигналинге во время вызванного ЖАК старения листьев. У арабидопсиса JAZ4 /8 и IAA29, репрессоры сигналинга ЖАК и ИУК, соответственно, конкурентно связывают WRKY57, экспрессия которого активируется ИУК, но репрессируется ЖАК.

Цитокинины (ЦК) - ЖАК. В качестве важного класса фитогормонов, приводящих к делению клеток и образованию меристемы, ЦК также могут взаимодействовать с ЖАК-сигналингом. Два гормональных пути могут быть связаны антагонистически (Stoynova-Bakalova et al., 2008). Содержание ЦК *in vivo* и применение экзогенных ЦК ускоряет ЖАК-опосредованный ответ на стресс (Dervinis et al., 2010), а обработка растений картофеля ЖАК вызывала накопление ЦК-рибозидов (Dermastia et al., 1994)

Брассиностероиды (БР) - ЖАК. В отличие от хорошо известного ингибирующего рост действия ЖАК, БР способствуют росту надземных частей растений. Сигнальный каскад БР хорошо описан, в том числе его рецептор BRI1, БР-ассоциированная киназа 1 (BAK1) и ТФ BES1 и BZR1, которые участвуют БР-индуцированной экспрессии (Clouse, 2002). Основным фенотипом мутантов, дефектных в рецепторе БР является карликовость.

Исследования с мутантами в биосинтезе БР предполагают, что БР могут противодействовать сигнализации ЖАК, особенно в отношении ЖАК-индуцированного ингибирования роста корня, а точкой конвергенции является нечувствительный к коронатину 1 белок F-Vox (COI1), необходимый для ответа ЖАК (Ren et al., 2009). Peng и соавторы (2011) показали, что БР влияют на ЖАК-индуцированное накопление антоцианина посредством регуляции «поздних» генов биосинтеза антоцианов, и эта регуляция может быть опосредована транскрипционными комплексами WD-repeat / Myb / bHLH.

Салициловая кислота (СК) - ЖАК. Перекрестная сигнализация СК-ЖАК была известна в течение длительного времени и является наиболее изученной среди перекрестных сигнализаций растительных гормонов (Pieterse et al., 2012). В принципе, сигнализация ЖАК участвует в ответе на некротрофные патогены и растительноядные насекомые, а центральным регулятором ответа на биотрофные патогенные организмы является СК (Pieterse et al., 2012). В природе, однако, растения атакуются одновременно и в последовательном порядке одним или несколькими патогенами, что индуцирует сигнальные пути СК и / или ЖАК. Преимущественная индукция одного пути и его антагонистическое взаимодействие с другим путем было неоднократно продемонстрировано (Pieterse et al., 2012); взаимодействие может быть смещено от антагонистического к синергетическому в зависимости от концентрации СК и ЖАК (Mur et al., 2006). Экологические сигналы, и ответы на них, такие как адаптация к высокой температуре или избегание тени, по-видимому, участвуют в поддержании баланса между путями СК и ЖАК. Взаимодействие между сигнализацией СК и ЖАК наблюдаемое во многих исследованиях у *Arabidopsis*, передавалось следующему поколению (Luna et al., 2012). Комбинированный подход протеомики и транскриптомики идентифицировал общие белки, активированные ЖАК и СК, связанные с реакциями окислительного или абиотического стресса (Proietti et al., 2013). Адаптивность растений в природе может быть связана с гибкостью обоих путей, обусловливаемых их отдельными компонентами, а также взаимодействиями (Pieterse et al., 2012). Главным игроком в сближении между сигналами ЖАК и СК у *Arabidopsis* является митоген-активирующая протеин (MAP)-киназа 4 (AtMPK4) (Rodriguez et al., 2010a), которая действует как негативный и положительный регулятор сигнальных путей СК и ЖАК, соответственно.

Абсцизовая кислота (АБК) - ЖАК. Взаимодействие между сигнальными путями АБК и ЖАК не удивительно, учитывая их общую центральную роль в нескольких стрессовых ответах (Cutler et al., 2010). Определение прямых рецепторов АБК, PYR/PYL/RCAR белков, позволило понять механизм взаимодействия между сигнальными путями АБК и ЖАК.

Гомологи PYL у табака и арабидопсиса индуцировались ЖАК (Lackman et al., 2011). Перекрестная сигнализация АБК-ЖАК способствует сохранению баланса между ростом и защитой. О взаимодействии сигнальных путей АБК и ЖАК в условиях засухи подробно изложено в главе 1.1.12.7.

Пост-трансляционная модификация белка и перекрестная сигнализация жасмоната и других гормонов. Пост-трансляционные модификации регулируют многие белки, критические для биосинтеза ЖАК, и взаимодействия сигналинга ЖАК и других фитогормонов, которые, вероятно, так же важны, как транскрипция и трансляция белков. Среди различных возможных модификаций белков - фосфорилирование, убиквитинирование и модификации SUMO (Katou et al., 2005; Lorenzo, Solano, 2005; Schweighofer et al., 2007) в центре внимания этих путей.

1.1.10.4. Регулирование жасмонатами вторичного метаболизма растений

Ниже перечислены некоторые примеры для доказательства концепции опосредованной ЖАК индукции биосинтеза вторичных метаболитов. Большинство структурных генов, кодирующих ферменты для биосинтеза никотина, транскрипционно регулируются ЖАК и зависят от функционального ко-рецептора COI1-JAZ (Todd et al., 2010). Экспрессия генов терпеноидного индол алкалоида винбластин регулируется каскадом ТФ, в том числе CgMYC2 (Zhang и др., 2011). Биосинтез противомаларийного сесквитерпен лактон артемизинина положительно контролируется двумя индуцированными ЖАК факторами отклика ЭТ, а именно ERF1 и ERF2 (Yu et al., 2012), которые действуют в согласованной манере с MYC2, как и ТФ WRKY1. Большинство синтетических путей глюкозинолатов индуцируются ЖАК (De Geyter et al., 2012). Некоторые из многочисленных ферментов в биосинтезе алкалоидов, состоящем из различных путей (Ziegler, Facchini, 2008) кодируются ЖАК-индуцируемыми генами.

Накопление антоцианов представляет собой наиболее видный ЖАК/ЖАК-Иле фенотип. ТФ, такие как PAP1, EGL3, GL3, MYB75 и TT8 - существенные компоненты транскрипционных комплексов WD-повтор/bHLH/MYB, участвующих в биосинтезе антоцианов и развитии трихом. Эти ТФ являются мишенями белков JAZ, тем самым обеспечивая механистическую основу для образования ЖАК-индуцированных антоцианов (Qi et al., 2011).

Общим принципом, лежащим в основе опосредованного ЖАК транскрипционного контроля биосинтеза вторичных метаболитов, таких как никотин, артемизинин, антоцианы, камалексин, глюкозинолаты индола и летучие терпены, является участие SCFCO11 комплекса, белков JAZ и MYC2 вместе с дополнительными компонентами, такими как

WRKY, ORCA, ERF, MYB, PAP1 и ZCT (Memelink, 2009; De Geyter et al., 2012). Аналогичные и гомологичные TF вовлечены в ЖАК-зависимый биосинтез различных вторичных соединений у разных видов растений. Это указывает на раннюю консервативную эволюцию сигнальной сети ЖАК, регулирующую биосинтез вторичных метаболитов (De Geyter et al., 2012).

1.1.10.5. Жасмонаты во взаимодействии растений с травоядными, насекомыми и микроорганизмами

Травоядные и насекомые. Участие ЖАК/ЖАК-Иле в качестве сигнала при элиситации раневого ответа у растений, появляющейся при механическом ранении или атаке травоядных, хорошо изучено. Данные, полученные в этой области исследований в последнее десятилетие, были тщательно обсуждены в обзорах (Bonaventure et al., 2011b; Erb et al., 2012; Meldau et al., 2012).

Патогены. Результаты исследований свидетельствуют о том, что ЖАК способствует устойчивости к некротрофным патогенным микроорганизмам, некоторым насекомым и травоядным, в то время как СК связана с устойчивостью к биотрофным патогенным микроорганизмам и некоторым насекомым. Это антагонистическое взаимодействие сигнализаций ЖАК-СК и его эволюционное значение обсуждалось в обзорах (Thaler et al., 2012; Pieterse et al., 2012). Сигнальный каскад ЖАК через SCFCO11-JAZ является основой, представляющей собой связь между ответами на атаку некротрофных патогенов и устойчивостью к растительноядным насекомым. В обоих случаях генерируется ЖАК и действует синергически с ЭТ на атаку некротрофных патогенов, и с АБК во время нападения травоядных.

Оксилипины, образованные 9-LOX и α -DOX, участвовали в индукции устойчивости к биотрофным патогенным микроорганизмам посредством сигнализации ЖАК (Vicente et al., 2012). N-ациламиды, производимые растениями, придавали устойчивость к некротрофным патогенам путем активации биосинтеза и сигнализации ЖАК (Méndez-Bravo et al., 2011).

Растения выживают при атаке нескольких видов вредителей путем определения приоритетов специфического сигнального пути и перемонтажа сигнализации гормональной сети. (Pieterse et al., 2012).

Симбиоз. Роль жасмонатов в симбиозе (арбускулярная микориза (АМ) и симбиотическая азотфиксация (RNS) интенсивно изучена и рассмотрена в течение последних двух десятилетий (Gutjahr, Paszkowski, 2009; Mortier et al., 2012). Многие данные поддерживают предположение о том, что ЖАК может действовать в качестве позитивного регулятора АМ (Isayenkov и др., 2005; Landgraf et al., 2012). ЖАК может вызвать повышение

доли местной или системной устойчивости АМ-растений против патогенов (Gutjahr, Paszkowski, 2009). Работы о регуляторной функции ЖАК при RNS противоречивы и не выявляют четко ее роль (Landgraf et al., 2012; Suzuki et al., 2011).

1.1.10.6. Жасмонаты в процессах роста и развития растений

Всхожесть семян. Ингибирование прорастания семян жасмонатами было неоднократно описано. Недавние генетические и биохимические данные показали, что ОФДК является ингибирующим соединением, которое действует вместе с АБК СО11-независимым способом (Dave et al., 2011).

Торможение роста корня. Подавление роста и ускорение старения были первыми двумя физиологическими реакциями, описанными для ЖАК. ЖАК-индуцированное торможение роста корней происходит преимущественно с помощью модуляции эффектов ИУК (Chen et al., 2011).

Образование боковых и придаточных корней. Боковое корнеобразование индуцируется ИУК, но ингибируется конъюгатом ЖАК с триптофаном. «Вниз по течению» от ИУК-индуцированного формирования адвентивных корней, существует отрицательная СО11- и МУС2-зависимая регуляция с помощью изменения гомеостаза ЖАК/ЖАК-Иле (Gutierrez et al., 2012).

Рост против защиты. Кроме рассмотренного выше торможения роста корней ЖАК, рост надземной части растений также ингибируется ЖАК. Любой ростовой ответ зависит от клеточного деления, отражая активность клеточного цикла, и от расширения клеток, опосредуемого образованием макромолекул, а также зависимым от ploидности ростом клеток, упругостью клеточной стенки, организацией микротрубочек и тургорным давлением (Rymen, Sugimoto, 2012). Все эти процессы находятся под гормональным контролем и зависят от окружающей среды – сигналов биотических и абиотических стрессов, которые, как известно, подавляют рост надземной части растений. Растительные гормоны, такие как ИУК, ЭТ и ГК, участвуют в таком стресс-индуцированном ингибировании роста (Band et al., 2012a; Murray et al., 2012). ЖАК является ключевым игроком в ответах на ранения от травоядных и механические повреждения; оба ответа, как известно, подавляют рост растений (Zhang, Turner, 2008).

Эндогенная ЖАК подавляет рост растений путем подавления митоза СО11/JAZ/МУС2-зависимым образом. Это хорошо согласуется с ЖАК-индуцированным перепрограммированием экспрессии генов, регулируемых клеточным циклом в СО11/JAZ/МУС2-зависимой манере (Pauwels et al., 2008). Росту способствует ГК, что, однако, подавляет активацию защитных генов. Эти антагонистические ответы вызваны

несбалансированным соотношением ГК и ЖАК (Kazan , Manners, 2012). При отсутствии ЖАК, образование ГК связано со стимуляцией роста и сдерживанием защиты, в то время как в отсутствие ГК, образование ЖАК сопровождается противоположным ответом. Белки DELLA и PIF (для ГК- сигналинга) также как JAZ и MYC (для сигнализации ЖАК) являются компонентами этого перекрестного разговора ГК-ЖАК, где ЖАК отдает приоритет защите над ростом (Yang et al., 2012).

Удлинение клеток и активность меристемы, необходимая для роста растений регулируются ИУК. Здесь ЖАК влияет на формирование и распределение ИУК путем индукции экспрессии ASA1 и путем регулирования PIN и PLETHORA (Chen et al., 2011).

Формирование трихом. Железистые многоклеточные трихомы часто участвуют в устойчивости к насекомым вследствие образования терпеноидов, флавоноидов, алкалоидов и защитных белков (Tian et al., 2012). Они представляют собой полезный инструмент для производства вторичных метаболитов (Tissier, 2012). Генетические доказательства участия ЖАК в формировании трихом были получены при изучении гомолога COI1 у томата (Wei et al., 2013). Железистые и не железистые трихомы участвуют в защите от травоядных через плотность трихом и ЖАК-индуцируемые защитные соединения, такие как P12, монотерпены и сесквитерпены (Tian et al., 2012).

У арабидопсиса мишенью белков JAZ являются ТФ, такие как MYB75, GL3 и EGL3, которые участвуют в биосинтезе антоцианов и инициации образования трихом (Qi et al., 2011). ЖАК регулирует инициацию трихом в зависимости от дозы через ключевой ТФ в формировании трихом GL3 и его взаимодействие с белками JAZ (Yoshida et al., 2009).

Старение листьев. Старение листьев является комплексной программой развития, которая зависит от условий свет/темнота, питательных веществ, биотических и абиотических стрессов, а также нескольких гормонов, в том числе ЖАК (Zhang, Zhou, 2013). Были идентифицированы связанные с ЖАК ТФ, активные при старении листьев: WRKY53 (Miao, Zentgraf, 2007), WRKY54 и WRKY70 (Besseau et al., 2012), и ANAC092 / ORe1 (Balazadeh et al., 2010). Листовое старение характеризуется индуцируемым ЖАК разрушением хлорофилла. У *A. thaliana*, ген, кодирующий хлорофиллазу1, одного из двух ключевых ферментов, участвующих в деградации хлорофилла, значительно индуцировался ЖАК (Tsuchiya et al., 1999). Кроме того, был предложен механизм, объясняющий усиливающие старение эффекты ЖАК в листьях. Было показано, что рубиско-активаза понижающе регулируется ЖАК COI1-зависимым способом (Shan et al., 2011).

Развитие репродуктивных органов растений. Наиболее известные фенотипы мутантов арабидопсиса, дефектные в биосинтезе и восприятии ЖАК, такие как *coil*, *opr3*,

dde1, *dde2*, *dad1*, *AOS* и *fad3-2fad7-2fad8* (Browse, 2009c), связаны с мужской стерильностью (Browse, 2009a,c). У мутантов с нарушениями в биосинтезе ЖАК, фертильность может быть восстановлена путем обработки ЖАК (Mandaokar et al., 2006). ТФ МУВ21 и МУВ24, идентифицированные как мишени JAZ репрессоров (Song et al., 2011), а также МУВ108, участвуют в ЖАК-регулируемом развитии тычинок и пыльцы (Mandaokar et al., 2006). Из всех перекрестных сигнализаций с участием ЖАК и других гормонов, взаимодействие ЖАК-ИУК является наиболее важным в развитии цветка (Reeves et al., 2012). В отличие от мужского стерильного фенотипа *coil*, гомологичный томатный мутант *jail*, ослабленный в томатном гомологе CO11 обладает стерильностью женского пола. Это предполагает, что передача сигналов ЖАК играет отчетливую роль в развитии цветка у арабидопсиса и томата.

ЖАК играет центральную роль в определении пола кукурузы (Acosta et al., 2009; Browse, 2009b). Один из участвующих генов, *TS1*, идентифицированный позиционным клонированием, кодирует пластидную 13-LOX (Acosta et al., 2009). Гомозиготный *TS1* мутант характеризуется потерей активности 13-LOX и более низкими уровнями ЖАК в соцветиях, но мутантный фенотип может быть спасен применением ЖАК (Acosta et al., 2009; Browse, 2009b). Цитоплазматическая мужская стерильность, наследуемая по материнской линии и приводящая к пыльцевой абортации, связана с биосинтезом ЖАК. (Liu et al., 2012).

Световая сигнализация. Открытие ключевых игроков в восприятии и сигнализации ЖАК (рецептор ЖАК, белки JAZ и ТФ МУС/МУВ) помогло понять, как ЖАК и свет интегрированы в рост и развитие и, как происходит конкуренция между ростом и защитой (Kazan, Manners, 2011). Многие исследования с использованием мутантов подтверждают участие жасмонатов в световой сигнализации (Costigan et al., 2011; Hind et al., 2011).

bZIP-ТФ НУ5 является положительным регулятором фотоморфогенеза и ключевым регулятором светового сигналинга. Он связывается с промотором LOX3 (Lee et al., 2007), участвующего в биосинтезе ЖАК (Caldelari et al., 2011). PFT1 - положительный регулятор опосредованной РНУВ системной сигнализации и является важным регулятором сигнализации ЖАК (Sevik et al., 2012). Световой стресс влияет на биосинтез ЖАК через пластидные белки фибриллина (Kazan, Manners, 2011).

1.1.10.7. Место жасмонатов в сети перекрестной сигнализации фитогормонов при засухе

Гормонозависимый ответ растений на засуху. Засуха носит многомерный характер и влияет на растения на разных уровнях их организации (Yordanov et al., 2000). Поэтому эффекты стресса часто наблюдаются на морфофизиологическом, биохимическом и молекулярном уровне, такие как ингибирование роста (Bahrani et al., 2010), усиление

производства совместимых органических веществ (Da Costa, Huang, 2009), изменения в содержании фитогормонов (Dobra et al., 2010; Kohli et al., 2013) и экспрессии генов, реагирующих на стресс (Shinozaki, Yamaguchi-Shinozaki, 2007). Изменение водного состояния ткани вызывает некоторые из этих ответов напрямую, в то время как многие другие вызываются гормонозависимой сигнализацией растений (Chaves et al., 2003). Реакция устойчивости / адаптации растений к неблагоприятным условиям окружающей среды сильно зависит от химических сигналов / вторичных метаболитов, которые регулируются гормонами растений, в сложном балансе между устойчивостью и ростом (Sreenivasulu et al., 2012). Известно, что гормоны не функционируют дискретными путями, а влияют друг на друга на разных уровнях (биосинтез или сигнализация) для управления сигнальными путями развития и адаптации к окружающей среде (Gray, 2004). Это создает сигнальную сеть, которая может интегрировать различные входные данные в комплексный выход, достигающий высшей точки в физиологической адаптации растения к стрессу, вызванному засухой.

Ключевую роль в этой гормональной сигнальной сети играет АБК. Ее функция в регуляции закрытия устьиц хорошо установлена и интенсивно изучается в течение последнего десятилетия (Mittler, Blumwald, 2015). Засуха выступает причиной накопления АБК в растениях и обширных изменений в экспрессии генов (Shinozaki, Yamaguchi-Shinozaki, 2007). Сигналы АБК, запускаемые рецепторами в плазматической мембране, а также цитоплазме, интенсивно изучались в замыкающих клетках устьиц (Mittler, Blumwald, 2015). Сигнализация АБК способствует увеличению концентрации цитозольного Ca^{2+} за счет активации кальциевых каналов в эндоплазматическом ретикулуме, что дополнительно активирует или ингибирует ионные каналы в плазматической мембране. В результате этого потенциал воды в апопласте снижается, и вода вытекает из клетки, что приводит к снижению тургора замыкающих клеток и закрытию устьиц.

Устойчиво растет объем доказательств участия жасмонатов в стрессе, вызванном засухой (Riemann et al., 2015). Многие гены, участвующие в сигналинге ЖАК, регулируются засухой. Листья ячменя, подвергнутые засухе, симулированной сорбитолом или маннитом, демонстрировали повышенное эндогенное содержание жасмонатов, а затем транскрипцию белков, индуцированных ЖАК (Lehmann et al., 1995). Кроме того, эндогенное содержание ЖАК повышалось в корневых клетках кукурузы при засухе (Xin et al., 1997), и это соединение было способно вызывать накопление бетаина в листьях груши (Gao et al., 2004). В некоторых исследованиях сообщается, что ЖАК улучшает устойчивость к засухе, но в других случаях она представлена как отрицательный агент, который вызывает заметное

снижение роста и урожайности, поэтому фактическая роль ЖАК при засухе остается спорной. В основном, наблюдаемые ответы зависят от типа рассматриваемых растений и тканей, интенсивности и продолжительности засухи и применяемой дозы ЖАК (Kim et al., 2009).

De Domenico с сотрудниками (2012) путем количественной ПЦР измеряли экспрессию ключевых генов, участвующих в метаболизме оксипинов, на образцах из стрессированных и не стрессированных корней засухоустойчивого и засухочувствительного сортов нута. В своем исследовании они продемонстрировали, что засухоустойчивый сорт реагирует на засуху с устойчивой и более ранней активацией специфической ЛОГ (*MtLOX1*), двух HPL (*MtHPL1* и *MtHPL2*), AOS (*MtAOS*) и OPR (*MtOPR*). Чрезмерная экспрессия этих генов положительно коррелировала с уровнями основных оксипиновых метаболитов из AOS-ветви пути ЛОГ, что в конечном итоге приводит к синтезу жасмонатов. Корни устойчивого сорта накапливали более высокие уровни ЖАК, его предшественника ОФДК и активного ЖАК-Иле, что указывает на участие жасмонатов в засухоустойчивости нута.

Экзогенные жасмонаты повышают устойчивость к засухе. Несколько сообщений свидетельствуют о том, что экзогенное применение жасмонатов улучшает реакцию растений на стресс от засухи. Сообщалось, что экзогенное применение ЖАК или МеЖАК повышает антиоксидантную способность растений под действием воддефицитного стресса (Bandurska et al., 2003; Nafie et al., 2011). В этом же контексте другие исследования также показали, что ЖАК играет важную роль в сигналинге, индуцирующем антиоксидантные ответы, вызванные засухой, включая метаболизм аскорбата (Li et al., 1998; Ai et al., 2008). МеЖАК улучшала устойчивость к водному стрессу у банана, регулируя рост, скорость пролиферации, накопление пролина, уровни хлорофилла, состояние водной ткани, окислительный стресс и ПОЛ мембран (Mahmood et al., 2012).

Чтобы специально рассмотреть взаимодействие сигнальных путей АБК и ЖАК на уровне всего растения, был использован мутант АБК-биосинтеза ситиенов томата. Когда черешки ситиенов были инкубированы с ЖАК, у них не было обнаружено никаких признаков закрытия устьиц, что оценивалось измерениями параметров газообмена. Однако в случае предварительной инкубации с АБК, черешки показали закрытие устьиц в ответ на ЖАК (Herde et al., 1997). Это предполагало, что у томата АБК требуется для опосредуемой ЖАК регуляции устьиц. Для сои было отмечено, что экзогенное применение МеЖАК не влияло на эндогенные уровни АБК. Тем не менее, водный стресс у проростков ячменя, которые были предварительно обработаны ЖАК, вызывал в четыре раза большее накопление

АБК по сравнению с контролем. Это явно указывало на роль ЖАК в биосинтезе АБК в условиях водного стресса (Vandurska et al., 2003).

Другое исследование было проведено Anjum с сотрудниками (2011), чтобы изучить роль экзогенного применения МеЖАК у сои в смягчении неблагоприятных последствий стресса, вызванного засухой. Растения сои выращивали в нормальных условиях до цветения, а затем подвергали засухе, прекращая полив с последующим нанесением МеЖАК на листья. Из наблюдаемых данных было замечено, что засуха существенно снизила показатели урожайности, тогда как ПОЛ мембран ускорилось. Когда растения, подверженные засухе, обрабатывались МеЖАК наблюдалось снижение ПОЛ мембран с одновременным значительным увеличением активности антиоксидантных ферментов, таких как супероксиддисмутаза (СОД), пероксидаза (РОХ) и каталаза (КАТ), а также увеличением содержания пролина и относительного содержания воды (ОСВ). Эти положительные эффекты привели к значительному улучшению показателя урожайности и компонентов урожая при засухе. Интересно, что применение МеЖАК также способствовало улучшению показателей в условиях хорошего полива. Эти результаты показывают, что МеЖАК путем модуляции окисления мембранных липидов и антиоксидантной активности улучшает засухоустойчивость сои (Anjum et al., 2011).

Синергичное действие АБК и ЖАК в сигналинге при засухе. АБК играет ключевую роль в адаптации растений к неблагоприятным условиям окружающей среды, включая стресс от засухи. Индукция синтеза АБК является одним из самых быстрых фитогормональных ответов растений на абиотический стресс, вызывая закрытие устьиц и, следовательно, уменьшая потерю воды через транспирацию (Wilkinson, Davies, 2010), что в конечном итоге приводит к ограничению роста клеток. Важная роль в закрытии устьиц во время засухи также была отведена ЖАК на основании данных о накоплении ЖАК во время засухи и ее позитивной регулирующей роли в закрытии устьиц (Suhita et al., 2004; Munemasa et al., 2007).

Во время адаптивных реакций растений на неблагоприятные условия окружающей среды перекрытие между профилями экспрессии генов, регулируемых гормонами, предполагает существование сложной сети с широким взаимодействием между сигнальными путями различных гормонов. Для изучения перекрестного взаимодействия между сигнальной трансдукцией АБК и ЖАК были исследованы АБК-нечувствительные (*ost1-2*) и МеЖАК-нечувствительные (*jar1-1*) мутанты арабидопсиса для участия в АБК и жасмонатном устьичном закрытии (Suhita et al., 2004). Модуляция ионов Ca^{2+} индуцировалась обоими гормонами. Однако первичные действия АБК и ЖАК в

плазматической мембране выглядят по-разному: ЖАК была нацелена на каналы Ca^{2+} , тогда как АБК активировала эффекторы в плазматической мембране (например, фосфолипазу С и D). Однако на уровне внутриклеточного Ca^{2+} оба пути передачи сигнала сходились. Авторы показали, что внутриклеточный уровень Ca^{2+} модулируется в гораздо большей степени с помощью ЖАК, чем с помощью АБК.

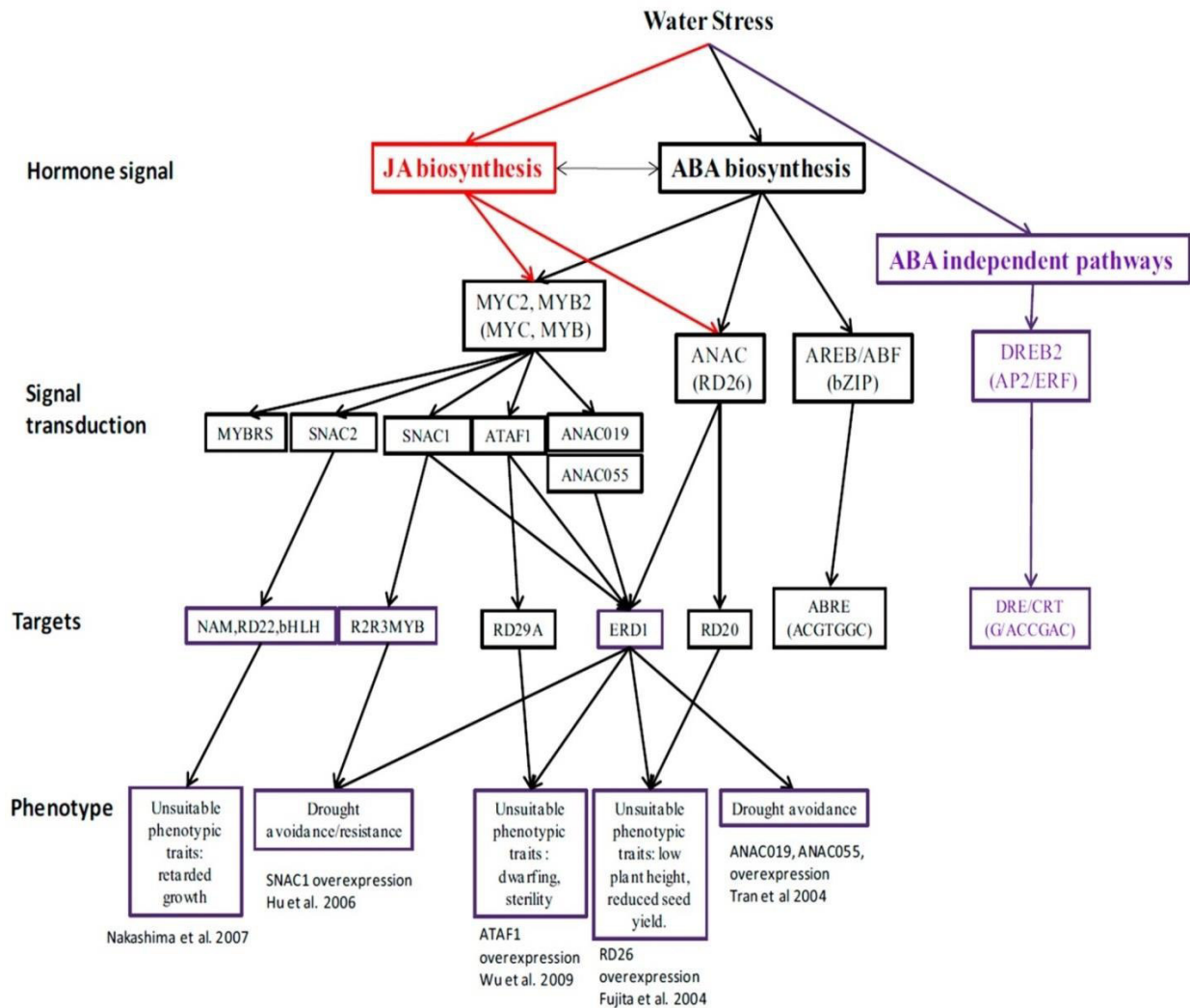


Рис. 11. Сигнальные пути, связанные с взаимодействием ЖАК-АБК в ответе на засуху (de Ollas, Dodd, 2016).

Было показано, что ЖАК взаимодействует с АБК-регулируемым замыканием устьиц за счет увеличения притока Ca^{2+} , который активирует СДРК-зависимый сигнальный каскад. Обработка листьев арабидопсиса либо АБК, либо МеЖАК приводила к уменьшению устьичной апертуры в течение 10 мин (Munemasa et al., 2007). Путем ингибирования биосинтеза АБК химическими ингибиторами или у АБК-дефицитных мутантов, МеЖАК-индуцированные колебания Ca^{2+} в замыкающих клетках подавлялись, а закрытие устьиц прекращалось (Hossain et al., 2011). Таким образом, было постулировано, что опосредованная

МеЖАК регуляция устьичного закрытия взаимодействует с АБК-опосредованной регуляцией путей передачи сигнала Ca^{2+} . Исследования, связанные с взаимодействием АБК с МеЖАК в замыкающих клетках, показывают, что оба гормона индуцируют образование АФК и оксида азота, а также то, что оба они присутствуют в пониженных концентрациях в МеЖАК-нечувствительных растениях (Munemasa et al., 2007).

Дефицит воды может изменять накопление как ЖАК, так и АБК. Водный стресс также активирует АБК-независимые пути с использованием генов ТФ DREB2 с последовательностями DRE в своих промоторах. АБК-зависимый путь использует ТФ AREB/ABF, ANAC и MYC. AREB представляет собой специфические АБК-ориентированные ABRE-последовательности, ANAC и MYC, похоже, активируются как ЖАК, так и АБК. Сверхэкспрессия каждого из этих ТФ активирует подмножество генов, определяющих специфический «фенотип засухоустойчивости» (рис. 11) (de Ollas, Dodd, 2016).

Комбинированный эффект АБК и ЖАК для акклиматизации к стрессу у арабидопсиса может быть опосредован обширным генетическим перепрограммированием, чтобы достичь нового гомеостаза (Harb et al., 2010). Harb и сотрудники (2010) предположили, что эндогенный уровень ЖАК вместе с высоким уровнем АБК достаточен для стимулирования подготовительного ответа, необходимого для акклиматизации к засухе (например, закрытие устьиц и модификации клеточной стенки) на ранних стадиях умеренной засухи (30% полевой емкости). Harb и сотрудники (2010) считают, что при засухе ЖАК не требуется в высоких концентрациях, и будет даже негативно сказываться на росте растений. Эти авторы показали, что нечувствительные к ЖАК мутанты арабидопсиса *coil* и *jin1* в сравнении с диким типом более устойчивы к умеренной засухе. Накопление биомассы у мутантов в условиях засухи не отличалось от хорошо орошаемого контроля. Эти результаты согласуются с исследованиями, показывающими, что опосредованное ЖАК торможение роста проростков и корня подавлено у мутанта *coil* (Xie et al., 1998). Harb и сотрудники (2010) предположили, что при отсутствии сигнала восприятия ЖАК не включается программа акклиматизации к стрессу, связанная со снижением роста. Таким образом, сигнальные пути, контролирующие рост растений при длительной засухе, могут сходиться на понижающей регуляции биосинтеза ЖАК, чтобы свести к минимуму ее ингибирующее влияние на рост растений, таким образом, установив новое состояние гомеостаза в процессе акклиматизации (de Ollas, Dodd, 2016).

Взаимодействие сигнальных путей ЖАК и других фитогормонов при засухе.
Перекрестная сигнализация АБК и ЖАК особенно важна для регулирования закрытия устьиц

при водном дефиците. Перекрестная сигнализация ГК и ЖАК, опосредованная через непосредственно взаимодействующие друг с другом белки DELLA и JAZ, вероятно участвует в подавлении или стимуляции роста в условиях воддефицитного стресса (Colebrook et al., 2014). Du и соавторы (2013) документально подтвердили взаимодействие между сигнальными путями ИУК и ЖАК при засухе у риса. В условиях засухи передача сигналов ЖАК и ЦК действует антагонистическим образом, так как биосинтез ЖАК активируется в корнях во время засухи (Poltronieri et al., 2013), а подавление биосинтеза и сигнализации ЦК способствует расширению корневой системы, что должно положительно влиять на устойчивость к засухе (Werner et al., 2010). MAP-киназа у арабидопсиса (AtMAPK4), сближающая сигнальные пути ЖАК и СК, быстро активируется абиотическими стрессами (Ichimura et al., 2000). В этом отношении заслуживает внимания возможная роль СК в устьичном замыкании (Miura, Tada, 2014). У арабидопсиса экспрессия гена фактора ответа ЭТ 1 (*AtERF1*) активируется как ЖАК, так и ЭТ (Lorenzo et al., 2003). В настоящее время сообщается, что синергическая активация *AtERF1* необходима для устойчивости к засухе и высокому засолению (Cheng et al., 2013).

Образование оксида азота рассматривается в качестве основного сигнала, влияющего на передачу сигналов ЖАК, СК и ЭТ в ответ на биотический стресс. Ряд авторов показали, что он также действует и в реакциях абиотического стресса (Huang et al., 2009; Zhang et al., 2011). В этом контексте роль NO в устьичной апертуре привлекла большое внимание. Первый уровень сигнализации формируется за счет рН, АФК, свободного кальция и фосфолипида, активирующего следующий уровень сигнализации посредством сложных взаимодействий этих первичных сигналов с АБК, ЭТ, ЖАК и NO (Gayatri et al., 2013).

Независимое участие ОФДК в передаче сигналов при засухе. Существует возрастающее число примеров, описывающих ЖАК/СОП1 независимую роль 12-оксофитодиеновой кислоты (ОФДК) - биосинтетически промежуточного соединения ЖАК (Wasternack, Hause, 2013; Stotz, 2013). ОФДК была способна активировать специфические сигнальные события. Savchenko и сотрудники (2014) показали, что в реакции на засуху функционировала, главным образом, ОФДК. Они определили, что засуха приводит к блокированию превращения ОФДК в ЖАК и далее показали, что ОФДК была точкой функциональной конвергенции оксипинового биосинтетического пути и пути АБК для контроля устьичной апертуры при адаптации растений к засухе. Они использовали три экотипа *A. thaliana*, чтобы продемонстрировать, что поранение индуцировало повышенные уровни и ОФДК, и ЖАК, тогда как засуха индуцировала только предшественник ЖАК ОФДК.

Уровни АБК также были, в основном, усилены засухой и незначительно - поранениями. Чтобы больше узнать о роли ОФДК в ответах растений на засуху, были созданы трансгенные линии и использованы существующие мутантные растения, которые отличались по их уровням ОФДК, индуцируемой стрессом, но показывали аналогичные уровни АБК. Растения, которые продуцировали более высокие уровни ОФДК, демонстрировали повышенную устойчивость к засухе и уменьшение устьиц. Кроме того, при экзогенном применении АБК и ОФДК, независимо от того, было ли оно индивидуальным или комбинированным, закрытие устьиц было больше у биосинтетических мутантов АБК и AOS, хотя наиболее эффективно при комбинированном применении АБК и ОФДК. Используя *Solanum lycopersicum* и *Brassica napus*, Savchenko и сотрудники (2014) проверили эффективность комбинации АБК и ОФДК в индуцировании закрытия устьиц у растений, отличных от *A. thaliana*. Они пришли к выводу, что засуха является сигналом стресса, который не связан с конверсией ОФДК в ЖАК, а также показали, что ОФДК является регулятором устьичного закрытия, реагирующим на засуху, наиболее эффективно функционирующим вместе с АБК. Таким образом, ОФДК была признана в качестве нового игрока в засухоустойчивости растений (Savchenko et al., 2014).

Гены сигналинга ЖАК у риса, связанные с засухой. Существует информация о роли фитогормонов в условиях засухи в модельных растениях, таких как *A. thaliana*. Современная проблема заключается в передаче этих знаний на другие, экономически более значимые виды растений. В настоящее время подобные исследования проведены только на *Oryza sativa*. Seo и соавторы (2011) с использованием подхода функциональной геномики идентифицировали ген ТФ *OsbHLH148*, содержащий основной спираль-петля-спираль-домен, который придавал засухоустойчивость рису как компонент модуля сигналинга ЖАК.

Исследование Kim с сотрудниками (2009) показало на мутантах арабидопсиса с конститутивной избыточной экспрессией гена ЖАК карбоксил метилтрансферазы (*AtJMT*) что именно МеЖАК, а не засуха, индуцирует биосинтез АБК в условиях засухи. Стратегия микроэррей определила семь генов, которые обычно регулируются в *AtJMT*-трансгенных и обработанных засухой нетрансгенных растениях. Два из этих генов, а именно *OsJMT1* и *OsSDR* (для короткоцепочечной алкогольдегидрогеназы), у риса участвуют в биосинтезе МеЖАК и АБК, соответственно.

Два приведенных выше примера подтверждают важность дальнейших исследований, посвященных изучению роли жасмонатов в борьбе с воддефицитным стрессом у риса. Вероятно, аналоги *OsbHLH148* и *OsJMT1* и *OsSDR* присутствуют у других злаков. Необходимы подобные исследования на других злаках, особенно на пшенице, которые могут

помочь в определении роли ЖАК индивидуально или в сочетании с другими фитогормонами для понимания реакции растения на засуху и получения более устойчивых сортов злаковых растений.

Тонкая настройка метаболического пути ЖАК может привести к устойчивости к засухе. Растения могут противостоять абиотическим стрессам с помощью нескольких различных механизмов, но признаки, связанные с механизмами устойчивости, являются мультигенными, часто сходящимися на генах, разделяемых разными стрессами. В стрессовых условиях взаимодействие между сигнальными путями и их биологическое значение еще недостаточно изучены. В настоящее время эти пути становятся лучше разрешаемыми из-за эволюции новых инструментов, которые позволяют исследовать физиологическую, генетическую и биохимическую основу таких процессов. Использование геномных, протеомных и метаболомных подходов подготавливает почву не только для модельных растений, таких как *A. thaliana*, но также и для таких культур, как рис (Kim et al., 2009; Seo et al., 2011). Эти исследовательские стратегии помогут определить новые взаимодействия между сигналингом различных классов гормонов стресса (Kazan, 2015).

МеЖАК регулирует многочисленные гены, индуцирующие при засухе, многие из которых также регулируются АБК с аналогичной кинетикой экспрессии (Nemhauser et al., 2006). В целом, эти данные поддерживают концепцию общих сигнальных компонентов для АБК и МеЖАК (de Ollas, Dodd, 2016), включая оксид азота (Daszkowska-Golec, Szarejko, 2013). Предложенное перекрытие между каскадами стресс-сигнализации ЖАК и АБК (Fujita et al., 2006; Harb et al., 2010) стимулировало поиск транскрипционных факторов и киназ как перспективных кандидатов для общих игроков в этом взаимодействии. Например, транскрипционный фактор AtMYC2 играет роль во множественных гормональных сигнальных путях. Из генетического анализа мутанта *jin1*, нечувствительного к ЖАК, было обнаружено, что JIN1 является алельным к AtMYC2, который был впервые идентифицирован как активатор транскрипции, участвующий в опосредованном АБК сигнальном пути при засухе (Abe et al., 2003). Нижестоящая мишень, ген *RD22*, чувствительный к обезвоживанию и солевому стрессу, активируется двумя факторами транскрипции AtMYC2 и R2R3MYB. Аналогично, экспрессия *RD26* индуцируется перекисью водорода, патогенными инфекциями и ЖАК, а также засухой, высоким засолением почвы и обработкой АБК (Fujita et al., 2006; Harb et al., 2010).

Учитывая огромные потери, вызванные неблагоприятными экологическими условиями, связанными с засухой, существует настоятельная необходимость в разработке новых сортов сельскохозяйственных культур с лучшей адаптацией или повышенной

толерантностью. Примеры, обсуждаемые выше, представляют существенную причину, чтобы предложить центральную роль ЖАК в качестве стрессового гормона для ответа на засуху. Более пристальное внимание к исследованиям в этом направлении поможет объяснению различных стрессовых реакций на засуху и нахождению критических узлов в биосинтетических путях фитогормонов, манипуляция которыми может быть полезна для устойчивости к стрессу без соответствующих негативных побочных эффектов, таких как снижение фертильности и роста растений. Это в значительной степени определит успешность в использовании этих путей для селекции устойчивых к стрессу сортов сельскохозяйственных культур.

1.2. Картирование генома пшеницы

1.2.1. Геном пшеницы *Triticum aestivum* L.

Мягкая, или хлебная, гексаплоидная пшеница (*Triticum aestivum* L.) является одной из основных сельскохозяйственных культур, которая широко возделывается и потребляется на всех континентах земного шара. Эта зерновая культура обеспечивает до 20 % потребностей человека в калориях, является важным источником белков и витаминов (Shewgry, 2009).

Гексаплоидная пшеница появилась примерно 7 - 9.5 тыс. лет назад, и образовалась путем последовательной гибридизации нескольких диплоидных видов пшениц и эгилопсов и поэтому относится к аллополиплоидам (амфиплоидам). По современным данным, донором генома А для мягкой пшеницы могла быть дикая диплоидная пшеница-однозернянка *Triticum urartu* ($2n = 14$, AA), наиболее вероятным донором генома В - *Aegilops speltoides* Tausch ($2n = 14$, SS), геном которого в полиплоидных пшеницах был модифицирован, а донором генома D - *Aegilops tauschii* Coss ($2n = 14$, DD). Таким образом, каждый из диплоидных предков привнес в гексаплоидную пшеницу по 7 пар хромосом (Гончаров, 2012).

Гексаплоидный геном *T. aestivum* L. содержит число хромосом кратное 7 ($2n = 42$, BBAADD) и является сложной генетической конструкцией. Одноименные (дублирующие друг друга) хромосомы в пределах генома называют гомологичными. Хромосомы с одинаковыми номерами, но принадлежащие разным геномам принято называть гомеологичными. Соответственно номерами 1, 2, 3 и т.д. обозначают группы гомеологичных хромосом. Геном мягкой пшеницы характеризуется очень большим размером (17×10^9 bp), который почти в 10 раз больше генома кукурузы, ~ в 43 раза превышает геном риса (Brenchley et al., 2012) и в 100 раз больше генома арабидопсиса. Геном *T. aestivum* отличается очень высоким содержанием повторяющейся ДНК и большим числом некодирующих

последовательностей (Леонова, 2013). В 2018 году Международным консорциумом по секвенированию генома пшеницы (International Wheat Genome Sequence Consortium – IWGSC) была завершена работа по секвенированию генома *T. aestivum* L. (<http://www.wheatgenome.org>; IWGSC, 2018).

В настоящее время в арсенале генетиков имеются наборы разных линий - абберантов пшеницы, которые широко используются для установления хромосомной локализации тех или иных полезных признаков. У нуллисомных линий отсутствует пара хромосом, у дителосомных - одно из плеч в какой-либо паре хромосом. Созданы линии с концевыми делециями на разной удаленности от центромеры. У нуллитетрасомных линий пара хромосом одного из элементарных геномов замещена парой хромосом другого генома. Созданы линии с межсортовым и межродовым замещением хромосом, дополненные линии с увеличенным числом хромосом, а также интрогрессивные линии, несущие чужеродный генетический материал (Хлесткина, 2014).

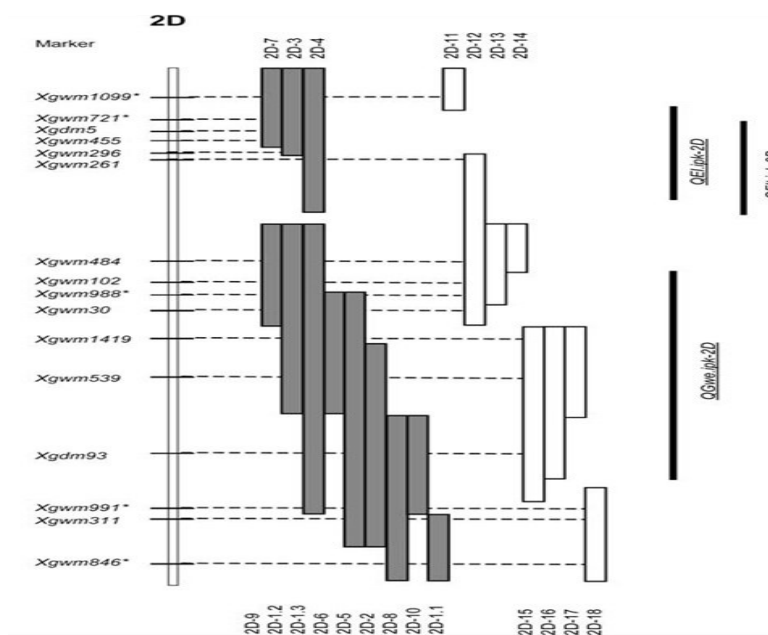


Рис. 12. Схема хромосомы 2D *T. aestivum*, генотипированной микросателлитными маркерами и участки интрогрессии *A. taushii* в интрогрессированных рекомбинантных линиях Чайниз Спринг/ Синтетик 6x (Pestsova et al., 2006).

Было получено большое разнообразие синтетических гексаплоидов, используемых в качестве «мостов» для передачи чужеродного генетического материала в геном мягкой пшеницы (Давоян и др., 2012). На основе замещенных линий создаются наборы рекомбинантных интрогрессированных линий, у которых в геном селекционной пшеницы введены сегменты хромосом диких злаков. Подобные модели используются для изучения генетической архитектуры количественных признаков, таких как время цветения,

Путь от отбора родительских линий до обнаружения гена включает физиологический анализ, создание сегрегирующей популяции, ее генотипирование и фенотипирование, а также различные «омикс» технологии (рис. 13). Мощные технологии «омикс» (геномика, транскриптомика, протеомика и метаболомика) включают последние достижения в области функциональной геномики, которые были предложены бактериальной искусственной хромосомой (BAC), данными последовательности генов, технологий молекулярных маркеров и биоинформационных средств для сравнительной геномики. Математические модели физиологических признаков и «омикс» родителей и отдельных рекомбинантных линий обеспечивают функциональные данные для выбора генов-кандидатов для ЛКП (Fleury et al., 2010). Генотипирование и фенотипирование сегрегирующей популяции остаются основными и важнейшими составляющими пути идентификации генов.

Генотипирование. Генетический маркер или генетическая метка – это признак с известной локализацией в геноме, удобный для генетического анализа и позволяющий следить за характером наследования других признаков, с которыми данный маркер сцеплен. В настоящее время в качестве маркерных систем используются полиморфные нуклеотидные последовательности ДНК, позволяющие тестировать генетический полиморфизм непосредственно на уровне генов, а не на уровне продуктов генов, как в случае использования метода белкового полиморфизма. ДНК-маркеры позволяют решить проблему насыщения генома маркерами и маркировать практически любые участки ДНК, в том числе некодирующие (Хлесткина, 2011; 2013; 2014).

Насчитывается несколько десятков типов молекулярных маркеров. Наиболее широко используются ДНК-маркеры: RFLP (restriction fragment length polymorphism) – полиморфизм длины рестрикционных фрагментов, AFLP (amplified fragment length polymorphism) – полиморфизм длины амплифицированных фрагментов, SSR (simple sequence repeats) – простые повторяющиеся последовательности (микросателлиты), SNP (single-nucleotide polymorphism) – однонуклеотидный полиморфизм, DArT (diversity array technology) – ДНК-чип технология для изучения разнообразия и другие. В обзорных статьях Е.К. Хлесткиной (2011; 2013; 2014), И.Н. Леоновой (2013) подробно рассмотрены типы молекулярных ДНК-маркеров, области их применения и лимитирующие факторы, влияющие на внедрение новых технологий в практическую селекцию.

С внедрением ДНК-маркеров наибольший размах приобрели среди прочих такие направления, как построение молекулярных карт отдельных хромосом и геномов, картирование на них генов и ЛКП. У мягкой пшеницы наиболее насыщенной молекулярными маркерами является генетическая карта, созданная на основе

рекомбинантных инбредных линий (РИЛ) популяции ITMI (International Mapping Triticiceae Initiative), созданной в начале 90-х годов для картирования генома мягкой пшеницы (Varshney, Tuberosa, 2008). С ее помощью были картированы гены и ЛКП для ряда хозяйственно-ценных признаков, таких как устойчивость к болезням (Li et al., 1999), продуктивность, качество зерна (Nelson et al., 2006; Пшеничникова и др., 2008).

Быстрые разработки в молекулярной биологии растений и в методах селекции на молекулярной основе привели к увеличению числа секвенируемых видов и большим коллекциям мутантов и рекомбинантных линий, позволяющих детализировать анализ функций генов. Генотипирование высокой плотности теперь может быть выполнено автоматическим способом при постоянном снижении издержек, тем самым способствуя генетике ассоциаций и определению мульти-родительских ЛКП (Poland, Rife, 2012). Основополагающие открытия в молекулярной биологии позволяют детально описывать и понимать сложные генетические сети, в частности пути ответа на засуху (Gahlaut et al., 2016).

Фенотипирование. Фенотипирование растений - это новая наука, которая связывает геномику с экофизиологией растений и агрономией. Функциональный растительный организм (фенотип) образуется во время роста и развития в результате динамического взаимодействия между генетическим фоном (генотип) и физическим миром, в котором развиваются растения (окружающая среда). Фенотип определяет производительность растения, измеряемую как накопленная биомасса, урожайность и эффективность использования ресурсов и является важной единицей для решения практических вопросов в растениеводстве (Fiorani, Schurr 2013; Pieruschka, Poorter 2012).

Использование генетических методов при анализе сложных признаков, связанных с урожайностью растений или устойчивостью к биотическим и абиотическим стрессам, требует анализа определенного генетического материала в нескольких, хорошо охарактеризованных экологических сценариях (Mir et al., 2012). Ключевые функциональные особенности растения, такие как урожайность, фотосинтез или водообмен, а также роль архитектуры растений для повышения эффективности использования ресурсов, необходимо количественно определять во время динамических ответных реакций на окружающую среду на протяжении всего их развития.

Анализ картирующих популяций, например, в случае QTL-картирования или широко-геномного ассоциативного картирующего исследования (GWA), требует фенотипирования как важнейшего компонента анализа. Эта количественная информация о взаимоотношениях генотипа и окружающей среды должна быть получена с определенной пропускной

способностью с сотнями и более линий с использованием минимально инвазивных или неинвазивных технологий, которые интегрированы в протоколы скрининга (Tardieu, Schurr 2009).

Несмотря на значительный прогресс в молекулярных и генетических инструментах селекции растений в последние годы, количественный анализ фенотипа стал основным ограничивающим шагом в текущих селекционных программах по повышению продуктивности растений (Tardieu, Schurr, 2009). Для более быстрого прогресса необходимы новые технические и концептуальные подходы к количественному анализу существующих генетических ресурсов и их взаимодействия с окружающей средой. Развитие фенотипирования является ключевым фактором успеха в современной селекции, а также для фундаментальных исследований растений. Это требует междисциплинарных усилий, которые включают интеграцию сенсорных сетей, средств моделирования среды, специализированных и высокопроизводительных платформ для автоматического фенотипирования, систем полевого фенотипирования и моделирования (Fiorani, Schurr, 2013).

Существует целый ряд национальных и международных сетей (например, APFF, <http://www.plantphenomics.org>. Au /; DPPN, www.dppn.de; FPPN, <https://www.phenome-fppn.fr/>; UK-PPN, <http://www.ukppn.org.uk/>), IPPN, <http://www.plant-phenotyping.Org/>) и проектов (например, EPPN, <http://www.plant-phenotyping-network.eu/>), которые фокусируются на широком международном взаимодействии между учеными, а также между учеными и промышленностью. Фенотипирование растений становится инструментом, который можно использовать для понимания генетики таких сложных признаков, как урожайность, биомасса растений и продуктивность растений в ответ на биотический и абиотический стресс. Таким образом, фенотипирование растений, как область исследований, развивается в направлении фенотипирования для разнообразных потребностей пользователей, что сопровождается разработкой и внедрением новых технологий для эффективного решения узких мест фенотипирования (Pieruschka, Poorter, 2012).

Функциональные маркеры у пшеницы. Продвижение технологий секвенирования следующего поколения, интегрированных с инструментами «омикс», способствовали идентификации генов-кандидатов, их аллельных вариантов и открыли новые пути ускорению улучшения урожая путем разработки и использования функциональных молекулярных маркеров (внутригенные маркеры, FMM) (Kage et al., 2016). FMM получены из функциональных вариантов, присутствующих в генной области, которая причинно определяет вариации признака. FMM являются диагностами аллелей ассоциированных с

желательным признаком, которые делают их маркерами выбора в программах селекции растений (Varshney, Tuberosa, 2008).

Быстрый прогресс в функциональной геномике, привел к накоплению огромных наборов данных функциональных последовательностей в виде клонов бактериальной искусственной хромосомы (BAC), клонов кДНК, экспрессирующихся последовательностей ДНК (EST) и других. Эта информация доступна в публичных базах данных (например, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>; <http://www.ebi.ac.uk>) и способствует развитию молекулярных маркеров из генных регионов.

FMM делятся на два типа: 1) FMM на основе микросателлитных маркеров (SSR, короткие тандемные повторы); 2) FMM, основанные на SNP (однонуклеотидный полиморфизм) или InDel (вставке и удалении). Для каждой новой аллели, чтобы эволюционировать или создавать вариации к существующим аллелям или аллельным комбинациям, существенны мутации в областях генов либо в виде SNP, либо в качестве InDel (Gregory, 2004; Zhang, Gerstein, 2003). Их много и они разбросаны по геному у различных видов растений (Nasu et al., 2009). Функциональные SNP и InDels могут непосредственно способствовать фенотипическому изменению, и такие полиморфизмы незаменимы для развития FMM (Thornsberry et al., 2001). Фенотипическую изменчивость признака могут вызывать как синонимичные, так и несинонимичные мутации. Синонимичные мутации, вызвавшие изменения в свойствах пшеницы, где дифференцированная экспрессия аллелей *TaZds-D1a* и *TaZds-D1b* для желтого пигмента были обусловлены синонимичной SNP-мутацией (Zhang et al., 2011). Синонимичный SNP, связанный с устойчивостью к дегидратации был идентифицирован в пшеничном гене *TaMYB2* на 458-м п.н. (Garg et al., 2012). Еще два FMM на основе SNP, связанные с засухоустойчивостью разработаны для пшеницы *Dreb1* (Wei et al., 2009) и *TaAQP* (Pandey et al., 2013). Известны также SNP-основанные маркеры LOX16 (489 п.н.) и LOX18 (791 п.н.) гена *LOX Talox-B1*, разработанные для макаронного качества пшеницы (Geng et al., 2012).

У пшеницы было клонировано больше 30 генов и разработано 97 FMM для идентификации 93 аллелей, связанных с пищевым качеством, агрономическими характеристиками и устойчивостью к болезням (Liu et al., 2012).

1.2.3. Картирование локусов количественных признаков

Фенотипическую величину многих признаков, включая морфологические признаки (такие как размер, масса и форма) обычно можно измерить по какой-либо количественной шкале. Хотя эта фенотипическая величина может быть результатом взаимодействия лежащих в ее основе генетических детерминирующих факторов, для большинства

количественных признаков не существует определенных взаимосвязей между фенотипической величиной и конкретным генотипом. На количественные признаки влияют многие гены, т.е. эти признаки полигенны (Хедрик, 2003).

Создание разнообразных картирующих популяций пшеницы, развитие и удешевление технологий генотипирования стимулировало рост работ по изучению архитектуры сложных полигенных признаков в геноме пшеницы через картирование ЛКП (QTL). QTL-анализ – это анализ ассоциаций между фенотипическими (измеренные признаки) и генотипическими (молекулярные маркеры) данными, который позволяет расчленить генетическую базу сложного признака на простые составляющие. Из общего числа ЛКП для интегральных признаков, обычно находят несколько с достаточно большими эффектами, объясняющие большую часть генетической вариабельности признака. Так, было показано, что содержание белка и крахмала в зернах кукурузы контролируют более 170 генов, тогда как QTL-анализ тех же признаков выявил, что 6 и 7 ЛКП объясняют 65% и 66% общей вариабельности этих признаков, соответственно (Pestsova et al., 2006). В последние годы применение картирования ЛКП расширяется до таких признаков, как количество РНК-транскрипта от конкретного гена (eQTL, expression QTL), или количество белка, полученного от определенного гена (pQTL, protein QTL).

Выявление генов-кандидатов для ЛКП – важнейшая задача после идентификации ЛКП. Соответствие между пиком eQTL для специфической кДНК и QTL для признака, связанного с функцией белка, кодируемого кДНК, является доказательством, подтверждающим роль этой кДНК как кандидатного гена для данного признака (Varshney, Tuberosa, 2008). Завершение секвенирования генома *T. aestivum* L. предоставляет возможность для биоинформационного выявления генов-кандидатов для ЛКП.

Определение главенствующей роли в проявлении фенотипического признака регуляторных генов, или генов, которые кодируют ТФ и другие сигнальные белки, является одной из важных новых тенденций в применении анализа ЛКП.

В течение двух последних десятилетий с применением молекулярных маркеров на хромосомах пшеницы было картировано большое число генов и ЛКП. Все сведения о локализации генов или ЛКП помещаются в Международный каталог генных символов пшеницы на сайте <http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/symbol>. Информация о маркерах, валидированных (проверенных) для практического использования, и рекомендованные протоколы представлены на сайте <http://maswheat.ucdavis.edu/>. На сегодняшний день на этом сайте размещены функциональные маркеры (внутригенные) для генов, влияющих на агрономически важные признаки, такие как, высота растений (*Rht*),

чувствительность к фотопериоду (*Ppd*), определяющие тип развития (*Vrn*), хлебопекарное качество (активность ЛОГ и РОХ, локусы, контролирующие субъединицы глютеина и другие) и устойчивость к различным патогенам.

1.2.4. Селекция с применением ДНК-маркеров

Методы селекции, в которых применяют ДНК-маркеры, основаны на отборе по генотипу (так называемая обратная селекция) и разделяются на две основные группы. В первой группе методов проводят отбор по генотипу при использовании ДНК-маркеров, тесно сцепленных с целевым геном. Такой подход называется маркер-ассоциированная селекция (МАС) или маркер-опосредованная селекция (МОС), от английского *marker-assisted selection* (MAS). Использование маркеров, тесно сцепленных с целевым геном, позволяет отбирать нужные генотипы с высокой точностью и решать задачи сочетания нескольких генов в одном генотипе (пирамидирование генов). МАС эффективна в случаях моно- или олигогенного контроля признаков. Если же признак имеет сложный полигенный контроль, то предпочтительнее вторая группа методов, которая объединяется названием геномная селекция.

Геномная селекция основана на анализе большого числа ДНК-маркеров, равномерно распределенных по геному. Этот подход позволяет проводить отбор по генотипу в отсутствие данных о генах, влияющих на признак, и включает три этапа: фенотипирование и генотипирование “тренировочных поколений” для выявления маркеров, ассоциированных со сложными признаками; анализ корреляций между фенотипом и генотипом; дальнейший отбор по генотипу (Смарагдов, 2009). Было показано, что в геномной селекции пшеницы может быть использована технология высокопроизводительного генотипирования DArT-маркерами (Charmet, Storlie, 2012)

Эффект многих ЛКП зависит от генетического фона и взаимодействия генотипа с внешней средой, поэтому необходимо проводить анализ сцепления фенотип - генотип в различных агроландшафтах (Mir et al., 2012). Для оценки селекционной значимости генотипа для пшеницы считается достаточным провести 4 повторности опыта в 8-10 географических точках. В ряде стран МАС уже используется для ускоренного создания новых сортов пшеницы, несущих целевые гены важных агрономических признаков. Для этих генов выявлены тесно сцепленные молекулярные локусы, являющиеся надежными ориентирами при отборе. Опубликован список таких маркеров, используемых в интернациональном центре улучшения кукурузы и пшеницы CIMMYT (William et al., 2007). С помощью молекулярных маркеров осуществляется отбор на содержание белка по гену *Gpc-B1*

(Distelfeld et al., 2006), по твердозерности (Giroux, Morris, 1997) и высоте растений пшеницы (Ellis et al., 2002).

В США, Канаде, Аргентине созданы и выпущены в производство сорта, в которые ценные гены введены посредством МАС. Например, сорт BIONTA 2004 (Аргентина) несет ген *Lr47* устойчивости к листовой ржавчине, сорт Lillian (Канада) несет ген *Gpc-B1* высокого содержания белка в зерне. В сорт твердой пшеницы UC113 (США) введены гены *Lr19* и *Sr25*, обеспечивающие устойчивость к самой агрессивной на сегодня расе ржавчинного гриба Уганда 99 (Ug99).

МАС успешно используется в таких культурах, как рис (Jena, Mackill, 2008), пшеница (Miedaner, Korzun, 2012), кукуруза (Prasanna et al., 2010), ячмень (Miedaner, Korzun, 2012) и сорго (Rooney, 2004). Однако применение маркеров для селекции на устойчивость к абиотическим стрессам, пока большей частью остается на этапе научных исследований. Для серьезного прорыва в этой области необходима интеграция усилий генетиков, селекционеров, физиологов растений, биохимиков и молекулярных биологов.

1.2.5. Генетический контроль засухоустойчивости пшеницы

Род *Triticum*, включающий хлебную (*T. aestivum*) и твердую пшеницу (*T. durum*) служит основным источником пищевого потребления человеком. Засуха в настоящее время является главной угрозой для мирового продовольственного снабжения, ограничивая урожайность. Устойчивость к засухе имеет решающее значение для стабилизации и увеличения производства продовольствия и является важнейшей задачей с селекции пшеницы. Повышение засухоустойчивости может быть достигнуто путем введения засухоотзывчивых генов и ЛКП в современные сорта пшеницы.

1.2.5.1. Природа признаков и генов, вовлеченных в устойчивость к засухе

Устойчивость к засухе является количественным признаком со сложным фенотипом, зависящим от стадий развития растения и силы воздействия стрессового фактора. Гены, участвующие в синтезе белков, которые обеспечивают засухоустойчивость, можно разделить на две основные группы:

1. Гены, кодирующие белки, участвующие в восприятии и трансдукции сигнала и регуляции транскрипции. Гены, участвующие в восприятии и трансдукции сигнала засухи, включают следующие два основных класса: а) гены, участвующие в восприятии сигнала засухи и передаче информации в ядро (например, мембранные транспортеры; белки ионных каналов; рецептор-подобные протеинкиназы и кальций-связывающие белки, такие как кальцинейрин и кальмодулин); и б) гены, кодирующие ТФ (например, AP2, bHLH,

bZIP, C2H2, ABI3VP1, MYB, цинковые пальцы, MADS, NAC и WRKY), которые участвуют в трансдукции сигнала «downstream», и, в конечном счете, связываются с цис-регуляторными последовательностями определенных структурных генов, относящихся ко второй категории генов.

2. Гены, кодирующие осмопротекторы / антиоксиданты, а также генераторы АФК. Среди них гены, участвующие в защите и поддержании клеточной структуры и функций, играют главную роль в развитии засухоустойчивых культур. Эти гены, относящиеся к разным классам, регулируются через сложную сеть. Генные системы и регуляция их активности включают: а) гены, участвующие в клеточном росте, которые в основном подавлены; и гены, участвующие в синтезе гормонов (включая АБК и ЖАК), метаболизме пролина и ферментов, поглощающих АФК и участвующих в углеводном обмене; б) гены, которые экспрессируются исключительно в корнях в условиях ограничения воды. Эти гены включают те, которые относятся к растяжению клеток и кодируют белки, такие как экспансины, экстензины, ксилоглюканы и целлюлозосинтазы; в) гены, кодирующие защитные белки, такие как белки позднего эмбриогенеза (LEA) и шапероны; г) гены, кодирующие изопентилтрансферазу (фермент, который катализирует стадию, ограничивающую скорость синтеза ЦК), что приводит к задержке старения, позволяющей растениям сохранять высокую фотосинтетическую активность во время эпизодов засухи (Rivero et al., 2009).

При засухе развитие растений в значительной степени зависит от сроков и интенсивности засухи и других условий окружающей среды (Araus et al., 2002). Кроме того, непредсказуемые условия окружающей среды приводят к плохим и ненадежным оценкам наследуемости, которые имеют решающее значение для генетического анализа связанных с засухой признаков (Sellammal et al. 2014). Недавние обзоры дают представление об ответах пшеницы на стресс, связанный с засухой (Nezhadahmadi et al., 2013; Khanna-Chopra, Singh, 2015; Gupta et al., 2017).

1.2.5.2. Молекулярные механизмы и гены ответа на засуху у *Triticum aestivum*

В последнее десятилетие высокопроизводительные методы транскрипционного и белкового профилирования были использованы для выявления потенциальных маркеров засухоустойчивости у разных видов пшеницы. Используя стратегии «омикс», в последние годы был идентифицирован ряд связанных с засухой белков, большинство из которых являются стрессовыми ТФ и преобразователями сигналов (Budak et al., 2013; Li et al., 2016; Wang et al., 2016).

В настоящее время большое внимание уделяется не только идентификации генов и ЛКП, связанных с засухой, но и исследованиям молекулярных путей для обеспечения засухоустойчивости. Растения разработали довольно сложные системы реагирования на засуху и другие абиотические стрессы. Эти системы реагирования часто используют ТФ (Gahlaut et al., 2016). В растительных геномах ~ 6-10% генов кодируют ТФ (Franco-Zorrilla et al., 2014).

Ген, кодирующий специфический фактор транскрипции вместе с его геном-мишенью составляет регулон, принимающий участие в трансдукции сигнала, в активации или подавлении генов, вовлеченных в ответ на засуху. Так, пяти конкретным семействам транскрипционных факторов (из более чем 80) уделяется особое внимание ввиду их значительной роли в засухоустойчивости растений. ТФ и регулоны, принадлежащие этим пяти мультигенным семействам (AP2/EREBP, bZIP, MYB/MYC, NAC и WRKY), показаны на рис. 14. Более подробная информация доступна в некоторых недавних работах (Nakashima et al., 2014; Singh, Laxmi 2015, Gahlaut et al., 2016), где также представлены списки известных к настоящему времени генов ТФ, связанных с ответом на засуху у пшеницы.

Как уже было сказано в главе 1.1.10.7, у растений были изучены две регуляторные транскрипционные цепи, вызванные засухой: АБК-зависимая и АБК-независимая. ТФ семейств bZIP, MYB/MYC и WRKY условно относят к АБК-зависимой транскрипционной цепи, а DREB и NAC к АБК-независимой (рис. 14). АБК-зависимые пути, по-видимому, привлекают к участию антиоксидантные и осмопротекторные механизмы, а АБК-независимые пути обычно включают защитные белки (дегидрины, LEA и др.). NAC и WRKY ТФ обеспечивают взаимодействие между этими путями, где некоторые члены, такие как TaNAC4 и TaNAC6, действуют преимущественно в зависимости от АБК, а некоторые члены могут быть ближе к АБК-независимым путям. Некоторые ТФ участвуют в обоих путях (например, TaWRKY19). Необходимо отметить, что оба пути тесно взаимосвязаны, а функции нескольких регуляторов, таких как TaNAC2a, а также целые пути, еще выясняются (Budak et al., 2013).

bZIP ТФ и AREB/ABF регулоны. ТФ bZIP представляют собой одну из самых разнообразных и самых больших семейств TF (Pérez-Rodríguez et al., 2010). Важное подсемейство bZIP ТФ, регулирующее экспрессию гена в ответ на стресс с помощью АБК принадлежит к группе А. Анализ АБК-индуцируемых генов показал, что каждый из этих генов несет консервативный *cis*-действующий элемент (ACGTGGC) в их промоторе, обозначенный как АБК-отзывчивый элемент (ABRE).

Недавно ген AREB пшеницы (*TaAREB3*), кодирующий TF bZIP также был идентифицирован и охарактеризован (Wang et al., 2016). Трансгенные линии арабидопсиса с избыточной экспрессией этого гена более чувствительны к АБК, а также более устойчивы к засухе и замораживанию. Функциональный анализ показал, что ТФ, кодируемый *TaAREB3* может связывать промоторы четырех засухо-чувствительных генов (*RD29A*, *RD29B*, *COR15A* и *COR47*) и активировать их экспрессию в условиях, как засухи, так и заморозков (Wang et al., 2016). Эти четыре гена являются ключевыми регуляторами сигнализации АБК. Другой пшеничный ген bZIP TF *TabZIP60* вызывал высокую экспрессию четырех ключевых регуляторов сигнализации АБК и холодо-отзывчивых генов (*AtRD29A*, *AtRD20*, *AtRD29B* и *AtCOR47*) у трансгенного арабидопсиса при засухе (Zhang et al. 2015).

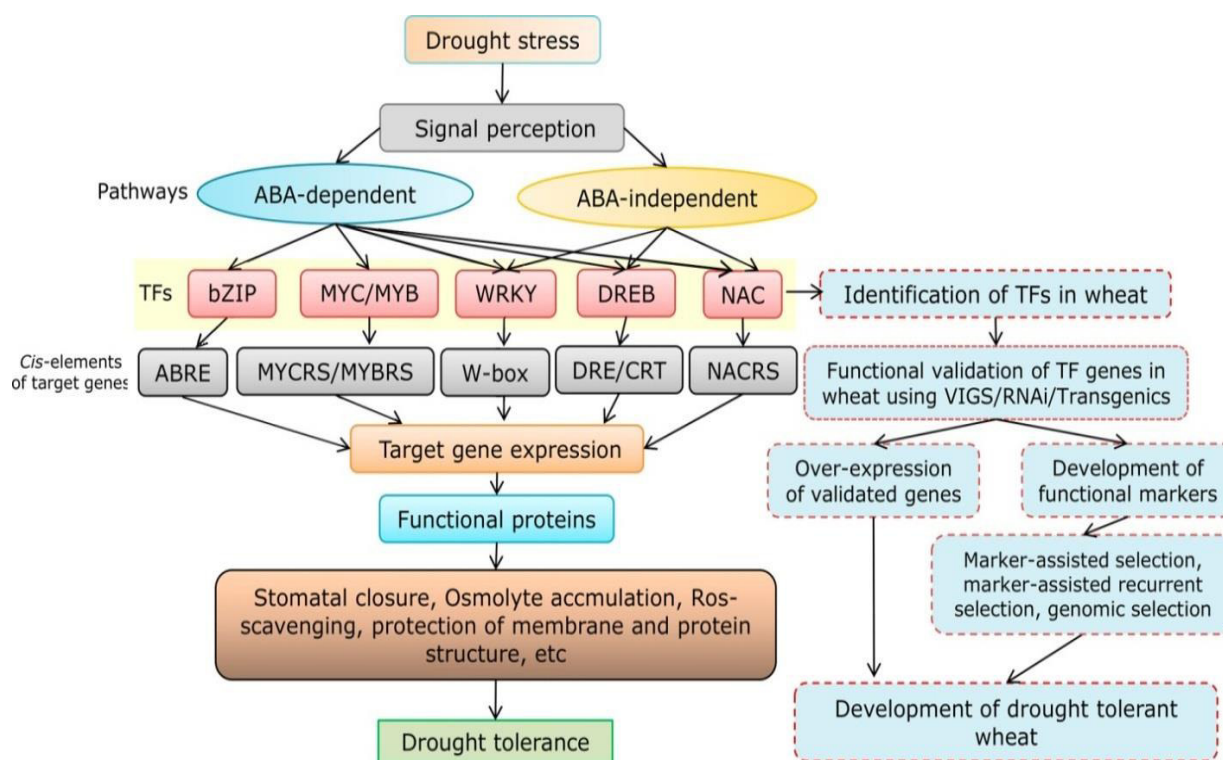


Рис. 14. Схематическое представление восприятия сигнала засухи и экспрессия генов с помощью АБК-зависимых и АБК-независимых путей у растений и их применение в маркер-ассоциированной селекции (модифицировано из Gahlaut et al., 2016).

MYB / MYC регулоны. ТФ MYB и MYC часто вместе участвуют в составлении общего регулона, описанного как MYB / MYC регулон. MYB / MYC регулоны участвуют в некоторых важных транскрипционных путях, которые вовлечены в стрессовый ответ на засуху через АБК-зависимые сигнальные системы (Abe et al., 1997; Baldoni et al. 2015).

У пшеницы было обнаружено, что ген MYB-ТФ *TaMYB30-B* участвует в стрессовом ответе на засуху. Трансгенные растения арабидопсиса, сверхэкспрессирующие ген *TaMYB30-B* демонстрировали измененные уровни экспрессии некоторых генов,

чувствительных к засухе (*RD29A*, *ERD1*). Они несли повышенную устойчивость к засухе во время стадий прорастания и проростков (Zhang et al., 2012).

Другой ген MYB-ТФ пшеницы *TaPIMP1* также участвует в регуляции генов, вовлеченных в ответ на засуху. Уровень его экспрессии положительно коррелирует с засухой (как показано на трансгенных растениях). Показано, что ТФ *TaPIMP1* усиливает экспрессионную активность ряда генов, связанных с защитой и стрессом, например, *RD22*, *TLP4* и *PR1a* (Zhang et al., 2012).

Был также обнаружен другой пшеничный ген MYB-ТФ *TaMYB3R1* в стрессовой реакции на засуху. В трансгенных линиях арабидопсиса, сверхэкспрессирующих *TaMYB3R1*, наблюдались увеличенные уровни мРНК для нескольких индуцибельных дегидратацией генов, включая как АБК-зависимые гены (*RD29A*, *RD29B* и *ABF3*), так и АБК-независимые гены (*COR15A*, *ADH1* и *CBF4*) (Cai et al., 2015). Было показано, что у арабидопсиса индуцированная экспрессия гена *RD22* опосредуется АБК, хотя отсутствует цис-элемент ABRE в его промоторном регионе. Его экспрессия регулируется предположительно двумя близко расположенными сайтами распознавания, для MYC-ТФ (*AtMYC2*) и MYB-ТФ (*AtMYB2*) (Abe et al., 1997; 2003). Это пример регулона, где один и тот же ген может нести два места связывания для двух ТФ. Сверхэкспрессия двух генов ТФ арабидопсиса (*AtMYC2* и *AtMYB2*) в трансгенных растениях, изученных путем анализа микроэррей, предполагает, что их целевые гены включают в себя многие АБК- или ЖАК-индуцируемые гены (например, *RD22*, *AtADH1*). Их трансгенные растения также были АБК-чувствительными и обладали улучшенной осмотической устойчивостью (Abe et al., 2003). Было показано на растениях арабидопсиса, что известный участник ЖАК сигнализации ТФ MYC2 (ген *AtMYC2*), а также дополнительный член ЖАК сигнализации ТФ MYC3 (ген *AtMYC3*) участвуют в АБК-регулируемой генной экспрессии в условиях засухи (Abe et al., 2003).

WRKY ТФ и WRKY регулоны. WRKY является крупнейшим надсемейством ТФ, уникальным для растений. Эти ТФ не только придают устойчивость к абиотическим стрессам, а также регулируют рост и развитие растений (Zhu et al., 2013). Трансгенные растения арабидопсиса, избыточно экспрессирующие гены пшеницы *TaWRKY2* и *TaWRKY19* показали возросшую устойчивость к засухе. *TaWRKY2* связывает промотор гена *RD29B*, а *TaWRKY19* связывает промоторы трех генов (*RD29A*, *RD29B* и *COR6.6*). В обоих случаях, связывание ТФ приводит к увеличению экспрессии генов «ниже по течению» во время засухи (Niu et al., 2012).

В другом исследовании, Wang с соавторами (2013) определили десять генов *TaWRKY*, обозначенных *TaWRKY1* - *TaWRKY10*. Среди этих генов, *TaWRKY10* был исследован более

подробно, и было показано, что он придает засухоустойчивость путем регулирования осмоса и снижения накопления АФК

Другой ген пшеничных WRKY-ТФ (*TaWRKY44*), который избыточно экспрессируется в трансгенных растениях табака, придает улучшенную устойчивость к засухе с увеличением относительного содержания воды, пролина, накопления растворимых сахаров и улучшения антиоксидантной системы (Wang et al., 2015).

14 АФК-связанных и стресс-чувствительных генов, которые активированы в этих трансгенных растениях, могут быть классифицированы в следующие четыре группы: (1) гены, кодирующие ферменты для детоксикации АФК (*NtSOD*, *NtAPX*, *NtCAT*, *NtPOX* и *NtGST*); (2) гены, кодирующие ферменты, участвующие в биосинтезе полиаминов (*NtADC1* и *NtSAMDC*), сахарозы (*NtSPSA*) или АБК (*NtNCED1*); (3) ген стресс-защитного белка (*NtERD10C*); и (4) гены LTP (*NtLTP1* и *TobLTP1*). Эти результаты свидетельствуют о том, что *TaWRKY* участвуют в регуляции экспрессии некоторых ключевых АФК-связанных и стресс-чувствительных генов в условиях засухи. *TaWRKY* могут объяснить молекулярный механизм пересечения АБК и детоксикационных сигнальных путей с путем ЖАК или другими октадеканойдными путями. Известно, что индукция генов детоксикации наиболее сильно стимулируется RES-оксилипинами, в том числе образованными в липоксигеназном пути метаболизма липидов. (Mueller, Berger, 2009), а LTP становятся биоактивными и узнаваемы мембранными рецепторами, участвующими в активации защиты растений, только в комплексе с ЖАК (Osman et al., 2001b).

DREB (AP2 / ERF) ТФ и DREB / CBF регулоны. ТФ элементов связывания, реагирующих на обезвоживание (dehydration-responsive element-binding, DREB) играют важную роль в ответе на засуху. Они представляют собой большое подсемейство ТФ, принадлежащих к семейству AP2/EREBP или AP2/ERF (APETALA2/ЭТ-отзывчивый элемент-связывающий белок/фактор). У пшеницы, *DREB1/CBF* и *DREB2* гены были идентифицированы, и названы *TaDREB1A* и *WDREB2* (Egawa et al., 2006; Hassan et al., 2015). Избыточная экспрессия этих двух генов пшеницы в трансгенных растениях арабидопсиса или табака приводит к сверхэкспрессии «ниже по течению» стресс-индуцируемых генов *RD29A*, *Wdhn13*, *Wrab1*, *Wrab18* и *Wrab19*, имеющих DRE в своей промоторной области; эти трансгенные линии также демонстрируют устойчивость к абиотическим стрессам, таким как засуха и заморозки (Egawa et al., 2006). Аналогичные результаты были получены с использованием генов ТФ DREB у арабидопсиса. Гены - мишени для DREB/CBF включают в себя гены, кодирующие белки LEA, холодо-индуцируемые белки, белки биосинтеза осмопротекторов и ингибиторы протеазы. Более 40 таких генов - мишеней, содержащих либо

DRE/CRT или другие основные мотивы в их промоторах, были идентифицированы (Maruyama et al. 2004).

НАС ТФ и НАС регулоны. ТФ семейства НАС также принимают участие в активации засухо-отзывчивых генов. Эти ТФ являются уникальными для растений и не были зарегистрированы в животных системах. Недавно было показано, что трансгенные растения арабидопсиса, сверхэкспрессирующие три гена НАС пшеницы (*TaNAC47*, *TaNAC67* и *TaNAC29*) показали улучшенную устойчивость к засухе. У трансгенных растений, несущих *TaNAC47*, увеличились уровни экспрессии шести стресс-чувствительных генов (*RD29A*, *RD29B*, *COR47*, *RD20*, *GSTF6* и *P5CS1*). Аналогичным образом, в трансгенных растениях, несущих *TaNAC67*, увеличилась экспрессия пяти стресс-чувствительных генов (*DREB1A*, *RD29B*, *RD29A*, *RAB18* и *ABI5*) (Mao et al., 2014; Zhang и др., 2016). В противоположность этому, у трансгенных растений, несущих *TaNAC29*, уровень экспрессии некоторых ключевых регуляторов сигнализации АБК и генов, ассоциированных со старением (*RD29B*, *SAG13*, *SAG113*, *AIB1*, *ERD11* и *ABI5*), был значительно снижен (Huang et al., 2015). Это наводит на мысль что пшеничные НАС ТФ могут быть вовлечены либо в активацию, либо в репрессию генов «ниже по течению».

ТФ для выполнения своей функции часто подвергаются обратимому фосфорилированию различными протеинкиназами или фосфатазами. Серин-треонин киназы (например, SnRKs), как правило, используются в фосфорилировании ТФ bZIP, НАС и DREB, митоген-активированные протеинкиназы (МАРК) используются для фосфорилирования MYB / MYC и WRKY ТФ, а кальций-зависимые протеинкиназы (CDPK) участвуют в фосфорилировании некоторых bZIP ТФ (например, ABF1 и ABF4). Известно, что МАРК каскад (МКК3-МПК6) играет ключевую роль в ЖАК-зависимой негативной регуляции *ATMYC2* (Takahashi et al., 2007) и таким образом фосфорилирование ТФ может являться еще одной точкой пересечения пути ЖАК с другими сигнальными путями в условиях засухи.

Недавно у пшеницы были идентифицированы гены трех спиральных факторов транскрипции *GT TaGT2L1A*, *TaGT2L1B* и *TaGT2L1D*, локализованные на хромосомах 2A, 2B и 2D соответственно. Все три гомолога были повсеместно экспрессированы во время развития пшеницы и реагировали на осмотический стресс, действуя как репрессоры транскрипции; *TaGT2L1* играет эволюционно консервативную роль в засухоустойчивости путем тонкой настройки плотности устьиц у пшеницы (Zheng et al., 2016).

ТФ совместно регулируются сетями, которые включают либо только ТФ или ТФ с микроРНК (Gahlaut et al., 2016) Отдельные ТФ обычно не функционируют в изоляции. Часто

происходят перекрестные взаимодействия между сигнальными путями с участием двух или более ТФ, между классическими АБК-зависимыми и АБК-независимыми путями (Budak et al., 2013; Gahlaut et al., 2016).

Две доступные базы данных пшеничных ТФ, TFDB *T. aestivum* <http://xms.sicau.edu.cn/wheatTFDB/> (Chen et al., 2015) и wDBTF *T. aestivum* <http://www.appli.nantes.inra.fr:8180/wDBTF/> (Romeuf et al., 2010) могут быть использованы для идентификации целевых ТФ, вовлеченных в ответ на засуху в определенных стадиях развития растений.

1.2.5.3. Картирование локусов количественных признаков, связанных с засухой

ЛКП, связанные с урожайностью в условиях засухи. Поскольку урожайность является самым важным признаком для селекционеров, большинство ЛКП для засухоустойчивости пшеницы определялись как урожай и урожайность при условиях ограничения воды (Shukla et al., 2015). Эти исследования осложняются тем, что оба эти признака сложные, включают множество локусов и зависят от взаимодействия генотипа и окружающей среды. Анализ ЛКП выявил несколько хромосомных регионов, связанных с урожаем зерна пшеницы при водном дефиците (Quarrie et al., 2005, 2006, 2007; Kirigwi et al., 2007; McIntyre et al. 2010; Kadam et al. 2012; Wu et al. 2012; Alexander et al. 2012). До сих пор ни одна из основных геномных областей для зернового урожая (выход зерна, ВЗ) и его компонентов в условиях водного дефицита, не были клонированы у пшеницы, поскольку информация о секвенировании генома гексаплоидной пшеницы и аннотации генов только начала появляться (<http://www.wheatgenome.org>). Геномный регион для ВЗ в условиях засухи был выявлен во всех исследованиях по хромосоме 3BS пшеницы (Massaferri et al., 2008; Campbell et al., 2003; Vorner et al. 2002). Учитывая недостаток молекулярно-генетических знаний о пшенице, некоторые исследователи воспользовались информацией о генетической основе генов-кандидатов, важных для механизма образования ВЗ у риса через синтению (Rustgi et al., 2013).

Крупные ЛКП для ВЗ и других компонентов урожая в условиях засухи с относительно большим эффектом действуют вместе с рядом незначительных ЛКП (Cattivelli et al., 2008; Fleury et al., 2010; Mir et al., 2012). В хлебной пшенице, ЛКП для компонентов урожая при водном дефиците были обнаружены на хромосомах 2BS, 2DS, 4AS, 4AL, 4BS, 6AS, 6BL, 7AL и 7BL (Quarrie et al., 2005; Kirigwi et al., 2007; McIntyre et al., 2010; Wu et al., 2012; Kumar et al., 2012; Kadam et al., 2012).

Ассоциации ЛКП-маркер-признак (МТА) и мета-ЛКП. Большое количество исследований по интервальному и ассоциативному картированию уже было проведено

для анализа комплексного генетического контроля устойчивости к засухе и связанных с ней признаков у гексаплоидной пшеницы и ее культурных и диких тетраплоидных родственников *T. turgidum* и *T. turgidum* sp. *Dicoccoides* (Borner et al., 2002; Campbell et al., 2003; Quarrie et al., 2005, 2006; Kirigwi et al., 2007; McIntyre et al., 2010; Kadam et al., 2012; Wu et al., 2012; Alexander et al., 2012; Kumar et al., 2012; Чесноков et al., 2014; Shukla et al., 2015; Parent et al., 2015; Addison et al., 2016; Xu et al. 2017). В этих исследованиях сообщалось о примерно 800 МТА. Эти ЛКП и связанные с ними маркеры распределены по всем 21 хромосомам пшеницы с максимальным количеством для физиологических признаков (429), за которыми следуют агрономические признаки (318) и признаки архитектуры корней (23). Однако только 68 ЛКП (9%) из них были главными ЛКП (объясняя фенотипическую вариацию $\geq 20\%$). Некоторые из них были стабильными (обнаружены в разных средах $> 50\%$), другие были неустойчивыми ($< 50\%$), (Gupta, 2017). Acuna-Galindo с соавторами (2015) выполнили мета-анализ 854 опубликованных ЛКП для 81 признака в разных полевых и контролируемых условиях, из которых 502 были связаны с засухой, 234 с жарой и 118 с физиологическими параметрами в не стрессовых условиях. ЛКП кластеризовались в 66 областях мета-ЛКП (MQTL). Было выявлено 19 MQTL для определения устойчивости к засухе на 13 хромосомах. Каждый MQTL представлял 2-8 отдельных ЛКП, а 19 MQTL представляли отдельные ЛКП для 17 различных агрономических и физиологических характеристик. Каждый MQTL имел намного более узкий доверительный интервал (в среднем 5,8 сМ), чем доверительные интервалы (в среднем 21,6 сМ) отдельных ЛКП, что предполагает большую точность при отображении MQTL. Четыре из 19 MQTL (MQTL2, MQTL11, MQTL29 и MQTL61) представляли от 6 до 7 отдельных ЛКП для агрономических и физиологических характеристик. Агрономические признаки включали в себя силу coleoptilya, количество зерен, ВЗ, биомассу, индекс урожая, высоту растений, плотность колоса, дни до образования главного колоса, цветения и созревания, в то время как физиологические признаки включали определение $\Delta^{13}\text{C}$, «stay green», содержание водорастворимых углеводов, наполнение зерна, водный статус и фотосинтез. Все вышеперечисленные агрономические и физиологические характеристики важны для селекции на засухоустойчивость. Поэтому маркеры (*Xwmc11*, *Xwmc296*, *Xgwm314* и *Xgwm400*), связанные с этими четырьмя MQTLs, могут оказаться полезными для MAS при селекции на засухоустойчивость.

Acuna-Galindo и соавторы (2015) сообщили о генах-кандидатах, лежащих в основе пяти MQTL. Гены-кандидаты в основном участвуют в антиоксидантной активности, передаче сигналов стресса и запасании белка. Некоторые из этих генов-кандидатов также,

похоже, участвуют в регуляции везикулярного транспорта. Интеграцией 137 SNP маркеров для жаро- и засухо-отзывчивых кандидатных генов было идентифицировано 50 SNP внутри интервала MQTL, что позволит использовать их в МАС для селекции пшеницы для устойчивости к засухе.

Главные и стабильные ЛКП и их совместная локализация с MQTL. Сообщается о большом количестве главных ЛКП, объясняющих > 19 процентов фенотипических вариабельности (% ФВ) для агрономических и физиологических характеристик в пшенице, выращенной в условиях засухи. В отдельных исследованиях использовалось до 20 сред, так что ЛКП с не менее 20% ФВ, идентифицированными в более чем 50% местоположений, считались стабильными и полезными. В литературном поиске было выявлено только девять таких устойчивых ЛКП для агрономических признаков и пять таких стабильных ЛКП для физиологических признаков. Каждый из вышеупомянутых девяти основных и стабильных ЛКП для связанных с засухой агрономических признаков объяснял ~ 20 - 45% ФВ, что является существенным ввиду весьма изменчивой природы засухи. Четыре из этих ЛКП были обнаружены для урожая зерна, из которых два ЛКП расположены на хромосомах 4А (Kirigwi et al., 2007). Другие ЛКП были расположены на хромосомах 3В (Shukla et al., 2015) и 7А (Quarrie, 2005; 2006). ЛКП на хромосомах 4А и 7А совпадали с MQTL для засухи и теплового стресса (Acuna-Galindo, 2015) и были картированы в геномных областях, которые также содержали более одного ЛКП для одного или нескольких из следующих признаков: дни до образования главного колоса и созревания; вид «stay green»; биомасса; определение $\Delta^{13}\text{C}$, сила колеоптиля; наполнение зерна; высота растения; количество зерен; плотность колоса; масса 1000 зерен (M1000з); содержание водорастворимых углеводов; ВЗ. Эти параметры представляют собой спектр морфологических и физиологических признаков, способствующих появлению всходов, урожайности зерна и адаптации к условиям засухи. Высокое значение % ФВ за счет каждого из этих ЛКП и подтверждение двух из этих ЛКП посредством анализа MQTL делает их пригодными для использования в МАС. Поэтому маркеры *Xwmc420* и *Xgwm332*, связанные с этими двумя ЛКП/MQTLs, могут быть полезны для МАС, нацеленной на селекцию для устойчивости пшеницы к засухе. Маркер *Xgwm332*, связанный с ЛКП на хромосоме 7А, уже развернут в программе скрещивания с помощью маркера (МАВС) для улучшения урожайности пшеницы в условиях засухи.

Как упоминалось выше, четыре из девяти основных и стабильных ЛКП для агрономических признаков способствовали урожаю зерна. Оставшиеся пять из девяти ЛКП по трем агрономическим признакам (M1000з, дни до образования главного колоса;

дни до созревания) в каждом случае объясняли 22% - 45% ФВ, хотя ни один из этих ЛКП не совпадал с MQTL. В качестве компонента ВЗ, вес зерна имеет высокую наследуемость и стабильность по сравнению с окружающей средой, а оставшиеся два фенологических признака (раннее цветение и зрелость) позволяют культурам избегать стресса, вызванного водodefицитом. Таким образом, эти пять ЛКП, связанные с маркерами *Xbarc101*, *XC29-P13*, *Xwmc 177*, *X7D-acc*, *cat-10*, могут также оказаться полезными для МАС при селекции на устойчивость к засухе.

Известны пять главных и стабильных ЛКП по трем физиологическим признакам, каждый из которых объясняет ~ 20% - 60% ФВ. ЛКП для мобилизации резервов стебля расположены на хромосомах 2D, 5D и 7D, для содержания водорастворимых углеводов на хромосоме 3A, а для содержания хлорофилла на хромосоме 3B. Ни один из этих ЛКП не был размещен совместно с MQTL. При засухе существенные запасы водорастворимых углеводов из стеблей пшеницы ремобилизуются в развивающиеся зерна и вносят существенный вклад в развитие зерна. Площадь зеленых листьев в периоде после цветения поддерживает ассимиляцию углерода и способствует зерновому заполнению (Thomas, Smart, 1993). Однако вид «stay green» листьев отражает как функциональную (лежащую в основе фотосинтеза емкость), так и нефункциональные (косметические) характеристики (Christopher et al., 2016), хотя эти две характеристики редко фенотипически разделены. Тем не менее, вид листьев «stay green» вносит значительный вклад в урожайность зерновых культур, когда они связаны с фотосинтетической способностью и ремобилизацией стеблевого резерва в зерно (Rebetzke et al., 2016). Таким образом, пять маркеров (*Xgwm294a*, *Xfbb238b*, *Xfbb189b*, *Xwmc0388a* и *Xbarc68*), связанные с ЛКП для трех признаков (содержание водорастворимых углеводов, мобилизация резервов стеблей и содержание хлорофилла), могут также оказаться полезными для МАС, что приведет к улучшению урожайности в условиях засухи.

Помимо вышеуказанных физиологических особенностей, интерес проявляется также к ЛКП для накопления АБК, которая, как сообщалось выше, регулирует многие физиологические процессы и способствует регуляции генной экспрессии у растений в условиях засухи. Несмотря на то, что сообщалось о 17 ЛКП для накопления АБК у пшеницы в условиях засухи, только половина из этих ЛКП были главными, и ни один из них не был признан стабильным (Barakat et al., 2015). ЛКП, связанный с уровнем АБК, фланкированный маркерами *Psr575* и *Xpsr426* на хромосомном плече 5AL был ассоциирован с генами дегидрина (*Dhn1 / Dhn2*) (Ibrahim et al., 2012). Гены для передачи сигналов АБК были зарегистрированы в регионе хромосомы 7A (Quarrie et al., 2007),

который содержал важный кластер ЛКП, контролирующий несколько признаков, включая урожайность зерен на колос (Quarrie et al., 2005). В ответ на засуху сообщалось также об 11 основных ЛКП для содержания АБК на четырех разных хромосомах (3А, 4А, 5А и 7В) (Barakat et al., 2015). Гены, лежащие в основе этих ЛКП, могут быть исследованы с использованием инструментов функциональной геномики.

Показано, что эпистаз существенно влияет на генетическую изменчивость ряда сложных признаков (например, адаптацию к засухе, теплу и засолению) в культурах, включая пшеницу и другие зерновые (Upadhyaya et al., 2011; Singh et al., 2014). Однако, % ФВ, обусловленный каждой парой взаимодействующих эпистатических ЛКП, был очень низким (0.27% до 8.26%), что указывает на то, что эпистатические взаимодействия не играют большой роли, и что, возможно, именно главные ЛКП обеспечивают устойчивость к засухе.

МТА, выявленные GWA. По меньшей мере, четыре GWA, включающие 108-262 генотипа, были проведены на пшенице в условиях засухи (Edae et al., 2014; Ahmad et al., 2014; Zhang et al., 2013; Ain et al., 2015) и были обнаружены 60 МТА для ряда агрономических и физиологических признаков. Используемые маркеры включали геномные маркеры SSR, SNP и DArT.

Из четырех вышеупомянутых исследований с участием GWA % ФВ, зависящий от МТА был зарегистрирован только в одном из них. В этом исследовании % ФВ, зависящий от МТА для M1000з, длины колеоптиля и ОСВ, составлял от 6.5% до 17.8% (Ahmad et al., 2014). Наивысшее значение % ФВ было обусловлено локусом *Xgwm312*, связанным с ОСВ. Эта ассоциация может быть использована в селекции на устойчивость к засухе. В другом исследовании *in silico* было идентифицировано шесть генов-кандидатов, связанных с МТА (Ain et al., 2013). Эти гены участвуют в одном или нескольких из следующих процессов: биосинтез хондроитинсульфата и биосинтез гликановых структур 1, пути убиквитинирования белка и модификации белка, поддержание иммунной толерантности, синтеза гликопротеина и гликофинголипид-углеводной цепи, белковое связывание и другие.

Помимо GWA, было также проведено сопоставление кандидатов на основе генной ассоциации, включающее следующие пять генов, которые вовлечены в устойчивость к засухе пшеницы: а) *DREB1A* (отзывчивый к дегидратации элемент связывания); б) *1-FEH-A* и *1-FEH-B*, каждый для фруктан-экзогидролазы; и в) *ERA1-B* и *ERA1-D*, каждый для усиления ответа на АБК (Edae et al., 2013).

Девять генов ТФ (*TaNAC29*, *TaABP1*, *TaWRKY10*, *TaWRKY12*, *TaWRKY16*, *TaWRKY19*, *TaWRKY20*, *TaWRKY44* и *TaWRKY82*) были нанесены на карту пяти хромосом пшеницы (2В, 3В, 4А, 4В и 7А) (Gahlaut et al., 2016), в регионах известных основных ЛКП для засухоустойчивости (Quarrie et al., 2006; Kirigwi et al., 2007; Alexander et al., 2012; Kadam et al., 2012; Nezhad et al. 2012; Maphosa et al., 2014; Shukla et al., 2015).

Гены, лежащие в основе ЛКП для нескольких различных признаков, были клонированы в кукурузе, рисе и сорго (Salvi, Tuberosa, 2015). Однако из-за большого размера генома пшеницы и повторяющейся ДНК (~ 80%), клонирование генов, лежащих в основе ЛКП для различных признаков, немногочисленно (Rawat et al., 2016). При наличии нескольких крупных и стабильных ЛКП для связанных с засухой признаков пшеницы, необходимы усилия для клонирования генов, лежащих в основе таких ЛКП. Характеристика генов, лежащих в основе ЛКП для устойчивости к засухе, поможет лучше понять молекулярный механизм устойчивости к засухе и разработать функциональные маркеры на основе генов для непосредственного использования в селекционных программах, направленных на улучшение устойчивости к засухе.

Несмотря на многочисленные исследования, генетическая основа устойчивости к засухе у пшеницы все еще неуловима. Физиологические признаки, связанные с засухоустойчивостью - превосходный доступный инструмент, поскольку они демонстрируют благоприятную комбинацию аллелей для устойчивости к засухе. Такие аллели взаимодействуют с окружающей средой и генетическим фоном, который включает вариации экспрессии генов. Таким образом, фенотипирование физиологических признаков, наряду с обнаружением генов, может быть очень ценным, чтобы выявить желаемые аллели и понять их генетический механизм (Maccaferri et al., 2008).

Одомашнивание в значительной степени ограничило генетическое разнообразие сельскохозяйственных сортов пшеницы. Высокопродуктивные и устойчивые к засухе дикие копии современных сортов, в частности, дикорастущая пшеница (*T. dicoccoides*), и естественные предшественники культивируемых культур (*Ae. tauschii*), обладают большим потенциалом для улучшения *T. aestivum* (Ergen, Budak, 2009; Peleg et al., 2009; Jia et al., 2013).

1.2.6. Известные локусы липоксигеназы в геноме пшеницы

Впервые у пшеницы *T. aestivum*, Hart и Langston (1977) установили хромосомную локализацию генов для двух разных типов ЛОГ – Lpx1 и Lpx2. Для Lpx1 были обнаружены три гомоаллельных гена: *LpxA1*, *LpxB1* и *LpxD1* на хромосомных плечах 4AL, 4BS и 4DS. Для гена *LpxB1* найдено два аллеля (*LpxBa1* и *LpxB1b*) у сортов пшеницы Чайниз Спринг и Bosanka. Для Lpx2 известны также три гомоаллельных гена: *LpxA2*, *LpxB2* и *LpxD2* на

длинных плечах хромосом 5A, 5B и 5D. Все они были найдены с помощью классических анеуплоидов Сирса по сорту Чайниз Спринг электрофоретическим анализом.

При геномном картировании генов защитного ответа пшеницы с использованием нуллисомно-тетрасомных линий Чайниз Спринг гены ЛОГ были картированы также на всех хромосомах 4 и 5 гомеологических групп. Минимальное число локусов – 6. В этом исследовании при помощи РИЛ ITMI гены ЛОГ были картированы на хромосомах 4A, 5A и 5B (Li et al., 1999).

Изучение генетического контроля ЛОГ пшеницы в основном проводилось в связи с ее влиянием на технологические свойства тетраплоидной пшеницы. Известно о дифференциальной экспрессии генов ЛОГ среди сортов тетраплоидной пшеницы. Было показано, что уровни тРНК LOX-1 отрицательно коррелируют с цветом семялины и содержанием каротиноидных пигментов, и что транскрипционные уровни гена *lox-1* не связаны с условиями среды, а только с генотипом (Manna et al., 1998).

На молекулярной карте сцепления, созданной с использованием интраспецифической популяции РИЛ твердой пшеницы, были картированы два гена ЛОГ: *Loxmit* на коротком плече хромосомы 4B и *Lox11-1* на длинном плече хромосомы 5B (Nachit et al., 2000). На основе этой картирующей популяции были найдены ЛКП для активности ЛОГ, стекловидности зерна и цвета муки. Активность ЛОГ была преимущественно связана с локусом *Lpx* на коротком плече хромосомы 4B. Этот локус был ответственен за 36 % ФВ в этой популяции. ЛКП для стекловидности зерна был также связан с этим локусом (10 % ФВ). Цвет муки, обычно связанный с активностью ЛОГ, в этой популяции не коррелировал с ферментативной активностью (Hessler et al., 2002).

Хотя существенные данные были получены о генах ЛОГ пшеницы *Lpx-B1* и *Lpx-B3* (Carrera et al., 2007; Garbus et al., 2009; Zhang et al., 2008), относительно мало было известно о локусах ЛОГ в геноме A или D. Feng с соавторами (2010) в своей работе показали, что соответствующие ПЦР праймеры из EST пшеницы могут быть использованы для выделения кодирующих областей полной длины двух подсемейств ЛОГ пшеницы (*TaLOX1* и *TaLOX2*). Кроме того, были сопоставлены *TaLOX1* с 4DS и *TaLOX2* с 5DL, используя как нулли-тетрасомные, так и линии с делециями на основе сорта ЧС. Было показано, что *TaLOX1* и *TaLOX2* могут находиться в *Lpx-D1* и *D2* локусах, соответственно. Эта работа не только подтверждает ранние данные о наличии генов ЛОГ на хромосомах 4D и 5D (Li et al., 1999), но также дает первое свидетельство о физическом местоположении *TaLOX1* и *TaLOX2* на концевых участках 4DS и 5DL, соответственно. *TaLOX1* и *TaLOX2* были экспрессированы в развивающихся зернах, и уровни их транскриптов увеличивались с трех

до четырех недель после цветения. Эти данные показывают, что гены, вероятно, вносят вклад в общую активность ЛОГ семян пшеницы. *TaLOX1*, вероятно, вносит больший вклад, чем *TaLOX2*, потому что он был более экспрессирован в сортах с относительно высоким или низким уровнем активности ЛОГсемян (Feng et al., 2010).

Garbus и соавторы (2013) расширили наши знания о структуре и эволюции гена ЛОГ в геноме пшеницы показали, что локус *Lpx-A1* представлен одним геном в диплоидной *Triticum urartu*, тетраплоидной *T. turgidum* и гексаплоидной *T. aestivum* пшеницах в отличие от множественных копий, зарегистрированных в геноме В. Псевдоген *Lpx-A1*, ранее идентифицированный в геноме *T. turgidum*, также был идентифицирован в *T. aestivum* сорта ЧС, тогда как *T. urartu* обладает полной копией, что указывает на то, что псевдообразование происходит после образования тетраплоида и затем переходит к гексаплоидной пшенице. Нуклеотидная последовательность *Lpx* *T. urartu* более тесно связана с *Lpx-1* генома В, чем с генами *Lpx* генома А от *T. turgidum* и *T. aestivum*, вероятно, из-за происходящих делеций и вставок.

Так как активность ЛОГ является важным фактором, определяющим цвет муки и качество конечных продуктов пшеницы, ЛКП для активности растворимой ЛОГ семян были картированы с использованием 71 удвоенной гаплоидной линии пшеницы, полученной при скрещивании Zhongyou 9507 × CA9632 и маркеров SSR (Geng et al., 2011). Два ЛКП, *QLpx.caas.1AL* и *QLpx.caas-4B* были идентифицированы на хромосомах 1AL и 4B, тесно связанные с активностью ЛОГ. Локусы *Xgwm512* и *Xgwm251* оказались диагностическими и объяснили 13.4 – 25.2 % фенотипической дисперсии локуса на хромосоме 1AL и 14.3 – 27.0 % для локуса на хромосоме 4B в четырех местоположениях. Маркеры *Xgwm251* и *Xwmc312* были подтверждены на 198 китайских сортах пшеницы и расширенных линиях и показали значительную ($P < 0.01$) связь с ферментативной активностью. Была установлена мультиплексная ПЦР с комбинацией маркеров *Xwmc312* / *Xgwm251* для тестирования этих сортов и линий пшеницы. Результаты показали, что данная комбинация маркеров эффективна и надежна для оценки активности ЛОГ и может использоваться в MAS.

В исследовании Zhang с сотрудниками (2015) два новых гена ЛОГ, обозначенные *TaLox-B2* и *TaLox-B3*, были клонированы на хромосоме 4BS китайской хлебной пшеницы. Аминокислотная последовательность показала, что оба гена *TaLox-B2* и *TaLox-B3* кодировали белок 861-аа и обладали доменом липоксигеназного суперсемейства в интервале 170 - 838. Впоследствии были обнаружены два разных аллеля *TaLox-B2*, обозначенные *TaLox-B2a* и *TaLox-B2b*. Кодоминантный маркер *Lox-B23* был разработан на основе последовательностей генов *TaLox-B2a*, *TaLox-B2b* и *TaLox-B3*, чтобы точно отличить эти три

аллеля в китайских сортах хлебной пшеницы. Среди пяти аллельных комбинаций генов ЛОГ в локусах *Lox-B1*, *Lox-B2* и *Lox-B3* сорта пшеницы с комбинацией *TaLox-B1a* / *TaLox-B2a* / *TaLox-B3a* проявили самую высокую активность ЛОГ, тогда как комбинация *TaLox-B1a* / *TaLox-B2b* / *TaLox-B3b* показала самую низкую ферментативную активность. Для оценки влияния гена *TaLox-B3a* на активность ЛОГ использовали популяцию РИЛ. Результаты показали, что ген *TaLox-B3a* может значительно увеличить активность ЛОГ в хлебной пшенице. Физическое картирование показало, что и *TaLox-B2*, и *TaLox-B3* были расположены на хромосоме 4BS хлебной пшеницы.

На сегодняшний день частично или полностью секвенированы восемь генов липоксигеназ, а именно *Lpx-A3* (DQ474242 и DQ474244), *Lpx-A1-like* (FJ518909), *Lpx-B1.1* (DQ474240), *Lpx-B1.2* (DQ474241), *Lpx-B1.3* (HM126469), *Lpx-B3* (DQ474243), *Lpx-A2* (DQ448002) и *Lpx-B2* (DQ448001), клонированные из твердой пшеницы и расположенные на хромосомах 4A, 4B, 5A и 5B (Hessler et al., 2002; Carrera et al. 2007; Zhang et al. 2008 Garbus et al. 2009; Verlotta et al. 2010). Три аллеля были идентифицированы для *Lpx-B1.1*, *Lpx-B1.1a* (HM126466), *Lpx-B1.1b* (HM126468) и *Lpx-B1.1c* (HM126470) (Verlotta et al., 2010). Четыре последовательности ЛОГ были идентифицированы и аннотированы в геноме *T. aestivum*, включая псевдоген в геноме A: *Lpx-A1-like* (KC679303), *LpxB1.1a* (KC679300) и *LpxB1.2* (KC679301) в геноме B и *Lpx-D1* (KC679302) в геноме D (Garbus et al., 2009, 2013). Feng et al. (2010, 2012) клонировали gDNA или кДНК последовательности трех липоксигеназных генов, то есть *TaLox1* (GU167920 / GQ166692), *TaLox2* (GU167921 / GQ166691) и *TaLox3* (HQ913602). Амплифицированные последовательности гДНК *TaLox-B1* из сортов хлебной пшеницы с разнообразными видами активности ЛОГ выявили наличие двух аллелей, а именно *TaLox-B1a* (HQ406779) и *TaLox-B1b* (HQ406780); синглонуклеотидный полиморфизм (SNP) был обнаружен в третьем экзоне *TaLox-B1a* и *TaLox-B1b* (Geng et al., 2012).

1.3. Хлебопекарные свойства пшеницы

1.3.1. Параметры текстуры эндосперма и качества клейковины гексаплоидной пшеницы

Одной из важных характеристик технологического качества пшеницы является текстура эндосперма, влияющая на мукомольные свойства зерна. Текстура эндосперма пшеницы, т.е. твердость или мягкость, как правило, рассматривается как физический параметр, который определяет конечное использование пшеницы. Твердые сорта гексаплоидной пшеницы хорошо приспособлены для хлебопечения, а мягкие сорта используются для изготовления печенья, бисквитов и тортов. Твердозерность определяется

сопротивлением зерен дроблению или распределением частиц молотого зерна по размерам, путем измерения мукомольных параметров, таких как Размер частиц муки (РЧ) и Удельная поверхность частиц муки (УПЧМ), а также содержанием поврежденного крахмала и, следовательно, водопоглощительной способностью теста (ВПС). Текстура эндосперма гексаплоидной пшеницы (*T. aestivum* L.) варьирует от очень мягкой до твердой, тогда как у тетраплоидной пшеницы (*T. turgidum* L. ssp. *Durum*) самые твердые зерна у всех сортов.

Стекловидность относится к физическим свойствам, которые влияют на визуальный внешний вид пшеничных зерен. Стекловидные зерна имеют непрерывный эндосперм, который преломляет свет таким образом, что зерно выглядит стеклянным. В не стекловидных зернах (также называемых мучнистыми) эндосперм прерывистый, содержащий воздушные пространства. Стекловидность зависит от окружающей среды, особенно от присутствия в почве азота (Morris, Beecher, 2012). Стекловидность вместе с твердозерностью характеризуют силу связи крахмальных зерен с белковыми включениями в эндосперме зерновки.

Для белков эндосперма пшеницы характерна способность формировать упруго-эластичную массу – клейковину. Клейковина образуется при замесе теста, и в сочетании с другими компонентами муки обеспечивает характерную структуру хлеба и макаронных изделий. Среди культурных и диких сородичей пшеницы клейковину в той или иной степени дают также белки некоторых форм ячменя, однозернянок, ряда эгилопсов и пырея. Совершенно лишены этой способности кукуруза, овес и рис. Клейковина пшеницы включает до 85 % белков муки, среди которых глютеин и глиадин, относящиеся к запасным белкам пшеницы, являются преобладающими и представлены примерно в одинаковых количествах (Кретович, 1973; Конарев, 1980).

Основные свойства клейковины - прочность, эластичность, связность, растяжимость, способность к релаксации. Эти характеристики целиком обусловлены свойствами клейковинного матрикса и зависят от двух главных факторов: во-первых, от соотношения глютеина и низкомолекулярных белков, типа глиадина и альбуминов и, во-вторых, от качественного состава этих групп белков, прежде всего от наличия среди них компонентов и структурных элементов с высокой агрегирующей способностью (Gras et al., 2001).

Клейковина твердой пшеницы - крепкая, короткорвущаяся и дает плотное неэластичное тесто, которое обладает высокой упругостью, но малой растяжимостью. По этой причине твердая пшеница используется для получения макаронных изделий. Клейковина мягкой пшеницы сочетает упругость с эластичностью. Благодаря этому тесто мягкой пшеницы обладает достаточной прочностью и растяжимостью, хорошей

газодерживающей способностью, что при выпечке хлеба обеспечивает его пористую структуру.

С развитием науки о зерне возрастает количество признаков, характеризующих технологические свойства пшеницы, следовательно, и методов их определения. В настоящее время разработано около трех десятков методов, которые дополняют друг друга. Наиболее важными технологическими свойствами, связанными с качеством клейковины, являются ВПС, продолжительность замеса теста, устойчивость теста к замесу, потребность в окислителях, способность давать хлеб большого объема с хорошей структурой мякиша. Эти характеристики муки и теста оценивают различными методами, среди которых наиболее широко распространены альвеография и фаринография. Альвеограммы позволяют измерять физические параметры теста: упругость, растяжимость и удельную работу деформации теста. Фаринограммы дают сведения о таких свойствах как оптимальное время замеса, устойчивость теста к замесу и другие. Фаринограф характеризует устойчивость теста в процессе длительной технологической процедуры хлебопроизводства. Все эти свойства как бы суммируются при выпечке хлеба и, в конечном счете, выражаются в показателях объема и качества хлеба (Конарев, 1980).

1.3.2. Молекулярно - генетическая основа текстуры эндосперма

Широко признано, что различия в твердости пшеничного зерна происходят из-за различий в адгезии между крахмальными гранулами и белковой матрицей эндосперма. Однако известно, что мягкие и твердые сорта пшеницы отличаются уже на 15 день после цветения, когда белковая матрица еще не сформирована (Turnbull et al., 2003a).

Greenwell и Schofield (1986) нашли тесную связь между мягкостью и присутствием на поверхности отмытого водой крахмала, белка с молекулярной массой 15кДа. Эта белковая фракция, названная фриабелин, в основном состоит из ПИНа и ПИНб (Capparelli et al., 2005). Используя трансгенные линии пшеницы со сверхэкспрессией ПИНа и / или ПИНб, Wanjugi и сотрудники (2007) пришли к выводу, что оба функциональных белка необходимы для получения высоких уровней ПИН, связанных с крахмальной гранулой.

Твердость эндосперма пшеницы строго генетически контролируется, в основном, локусом твердости (*Ha*), расположенном на дистальном конце короткого плеча хромосомы 5D, с мягким фенотипом как доминирующим признаком. Локус содержит как гены *Pina*, *Pinb*, так и ген белка мягкозерности (*Gsp*) (Sourdille et al., 1996; Giroux, Morris, 1998). *Gsp* не был функционально связан с твердостью зерна, поскольку измененные дозы этого гена не связаны с воздействием на признак (Tranquilli et al., 2002). Оба гена ПИН находятся в непосредственной близости (18 kb) (Chantret et al., 2005).

Наличие обеих последовательностей ПИН дикого типа, обозначенных как *Pina-D1a* и *Pinb-D1a*, приводит к мягкой текстуре эндосперма, а мутация в *Pina-D1* или *Pinb-D1* дает твердый эндосперм. Наличие / отсутствие и полиморфизм последовательностей генов *Pina-D1* и *Pinb-D1* были превосходно рассмотрены Morris и Bhave (2008). Наиболее распространенной связанной с твердостью мутацией в *Pina-D1* является нуль-мутация (*Pina-D1b*). Это приводит к отсутствию транскриптов ПИНa и, как результат, белков ПИНa в зерне (Giroux, Morris 1998). Часто встречающийся аллель *Pinb-D1b* с изменением глицина на серин в положении 46 приводит к низким уровням фриабилина на поверхности крахмала и твердой текстуре зерна. Этот аллель *Pinb-D1b* является наиболее общей мутацией в североамериканских, австралийских и китайских пшеницах (Pauly et al., 2013).

Наряду с ПИН, по-видимому, полярные липиды определяют твердозерность пшеницы. Greenblatt с соавторами (1995) первыми сообщили о взаимосвязи уровней глико- и фосфолипидов, связанных с поверхностью крахмала, и твердостью эндосперма. Feiz с соавторами (2009b) позже подтвердили эти результаты, используя трансгенные генотипы со сверхэкспрессией ПИН. Они предположили, что большинство компонентов фриабилина связываются с крахмалом через опосредованные полярными липидами гидрофобные и ионные взаимодействия. Было постулировано опосредованное липидами объединение ПИН с гранулами крахмала либо прямым путем, с участием липидных «мостиков» между поверхностью крахмальной гранулы и белками фриабилина, либо косвенно, когда ПИН подвергаются конформационному изменению вследствие присутствия полярных липидов, что позволяет им связываться с крахмальной гранулой (Oda, Schofield, 1997; Vako et al., 2007). ПИН приобретают немного более высокий уровень α -спирали, когда связывают полярные липиды. Также возможно, что полярные липиды связывают белки, уже прилипшие к крахмальным гранулам (Oda, Schofield 1997). Однако точный механизм неизвестен, возможно, более чем один механизм участвует в ПИН-липид-крахмальных взаимодействиях.

Тгр-богатый домен, из-за его липид-связывающей способности, считается функционально важной областью ПИН. Путем создания новых аллелей ПИН в мягкой пшенице, была показана важность Тгр-богатого домена ПИНb в модуляции текстуры эндосперма пшеницы (Feiz et al., 2009a). Wall и соавторы (2010) определили Тгр-богатый домен в качестве крахмал-связывающей области.

Для большинства авторов (Lillemo, Morris, 2000; Feiz et al., 2009b), ясно, что ПИН играют роль во время высыхания и созревания семян. Используя почти изогенные линии, было продемонстрировано, что мягкие сорта содержат больше фосфо- и гликолипидов, чем соответствующие твердые сорта во время развития семян, причем наибольшие различия в

полярных липидах, обнаружены в зрелых семенах (Kim et al., 2012b). Действительно, ранее, Feiz и соавторы (2009b) обнаружили увеличение связывания полярных липидов в зрелых семенах, когда ПИН были сверхэкспрессированы. Таким образом, предположили, что ПИН определяют твердость пшеницы путем стабилизации мембраны амилопласта во время высыхания зерна, тем самым предотвращая полное разрушение липидной мембраны при созревании пшеничного зерна (Feiz et al., 2009b; Kim et al., 2012b). С этой точки зрения тонкий барьер остатков мембраны отделяет крахмальные гранулы от клейковины в эндосперме. Однако в твердой пшенице мутировавшие ПИН со сниженной липид-связывающей способностью не могут стабилизировать мембраны амилопласта во время высыхания семян, что приводит к более тесному контакту и усилению адгезии между гранулами крахмала и белковой матрицей.

Важно отличать твердость пшеницы от стекловидности. Хотя Morris и Beecher (2012) недавно представили доказательства генетического компонента стекловидности, она может проявиться, когда зерно выращено при высоком уровне азотного удобрения и высокой температуре. Молекулярная основа стекловидности неизвестна. Стекловидное зерно обычно содержит больше белка, а его внутреннее пространство более плотно упаковано, чем у других зерен, и отсутствуют воздушные пространства (Delcour, Hoseneey, 2010).

1.3.3. Молекулярные процессы, лежащие в основе формирования клейковины

Качество клейковины не может быть полностью понято исследованиями только зрелого зерна. Во время налива зерна, генетические и экологические эффекты изменяют состав его компонентов, в частности, белков, таким образом, что это влияет на конечное качество. Понимание того, как происходят эти изменения, может помочь в разработке стратегий управления ими для целевых свойств конечного использования пшеницы. Формирование клейковины можно представить себе как процесс агрегации молекул глютеина и глиаина и включения в этот комплекс альбуминовых и глобулиновых белков, нуклеопротеидов, липидов и углеводов. Очевидно, что характер участия различных белков в формировании клейковины определяется, прежде всего, первичной структурой и свойствами их молекул (Конарев, 1980).

Пшеничные проламины - мономерные глиадины и полимерный глютеин хорошо охарактеризованы. Описаны их биохимические, генетические и молекулярные характеристики, посттрансляционные процессы, сборка и разделение (Конарев, 1980, Созинов, 1985; Труфанов, 1994; Shewry, 2009). Проламины определяются в пшеничных семенах через 7-10 дней после цветения и накапливаются во время физиологического созревания между 12 и 35 днями после цветения (Shewry et al., 2009). Высокая скорость

синтеза белка приводит к высокой концентрации запасных белков в ЭР и способствует агрегации белков (Tosi et al., 2009). Зарождающиеся полипептиды ко-транслоцируются в грубый просвет ЭР, который является местом, где происходят многие посттрансляционные процессы, включая фолдинг, образование внутримолекулярных дисульфидных связей и полимеризация. Во время фазы созревания, протеиновые тела интегрированы и увеличены, а в начале обезвоживания кариопсиса, они образуют непрерывную белковую матрицу (Tosi et al., 2009).

Баланс клейковинных белков отвечает за физические свойства, такие как сила муки, растяжимость теста и способность к расширению теста при выпечке. Эти основные свойства определяют две основные переменные: а) отношение полимерных белков (главным образом глютеинов) к мономерным белкам (глиадинам) и б) распределение молекулярных масс (MWD) полимерных белков. Первый определяется в основном генетическими факторами; то есть числом генов, кодирующих глиадины и субъединицы глютеина. Большие глютеиновые полимеры состоят из двух основных групп субъединиц, высокой молекулярной массы (HMW-GS) и низкомолекулярных (LMW-GS). На MWD глютеина влияют как генетические факторы, так и окружающая среда (Naeem et al., 2012; Li et al., 2013).

Полимеризация субъединиц глютеина является наиболее важным шагом в формировании белковой сети клейковины. Shewgу и соавторы (2009) использовали эксклюзионную высокоэффективную жидкостную хроматографию, чтобы продемонстрировать, что кариопсис содержит полимеры с высокой и низкой молекулярной массой уже на 4-ый день после цветения. Доля полимеров с высокой молекулярной массой быстро увеличивается во время высыхания зерна. Rhazi и соавторы (2003) показали, что во время деления клеток и фазы расширения клеток, субъединицы глютеина и, в частности, LMW-GS имеют большое количество свободных SH-групп и становятся окисленными во время обезвоживания зерна, что совпало с образованием SDS-нерастворимого полимерного белка (UPP).

Модель, предложенная Hamer и van Vliet (2000) предполагает наличие двух различных уровней агрегации запасных белков во время созревания зерна. Первый уровень касается формирования экстрагируемого полимерного белка во время деления и увеличения клеток и зависит от генетически определенного состава субъединиц глютеина. Второй уровень агрегации относится к образованию UPP путем запутывания, стабилизированного водородной связью и дополнительными дисульфидными мостиками, и приводят к образованию белковой сети. Этот уровень агрегации индуцируется обезвоживанием зерна.

Carceller и Aussenac (2001) показали, что количество и распределение молекулярного размера (то есть индекс полимеризации) агрегатов уровня 2 в значительной степени зависит от состава агрегатов уровня 1. Не только состав субъединиц глютенина, но также условия их полимеризации на первом и втором уровнях агрегации определяют распределение MWD белковых полимеров, которое, как известно, является молекулярной основой вязко-упругих свойств клейковины (Shewry et al., 2009).

Было показано, что в ПИН и запасные белки следуют по одному и тому же маршруту в процессе развития зерна, переходя от белковых тел в запасающую вакуоль, и, в конце концов, становятся внедренными в белковую матрицу в конце развития эндосперма. ПИН влияли на фолдинг запасных белков в секреторном пути (ЭР) и, следовательно, на агрегацию запасных белков и образование белковой матрицы в сухом эндосперме (Lesage et al., 2012).

В процессе хлебопечения формирование клейковины и вязко-эластичной структуры теста происходит после добавления воды к муке, в результате чего разобщенные молекулы белка образуют сплошную гомогенную трехмерную сеть с вплетенными в нее крахмальными зернами. Клейковина представляет собой необычайно сложный комплекс разнородных компонентов муки, возникающий в процессе замеса теста.

Структурную основу клейковины составляет трехмерная сеть линейно сшитых субъединиц глютенина и компонентов глиадины за счет дисульфидных связей, а также водородных и гидрофобных взаимодействий. При замесе теста ориентированные натяжением линейные полимеры белковых молекул складываются в пучки, образуя фибриллярную структуру. Трехмерная сеть клейковины может возникать путем «слипания» участков фибрилл за счет тех же сил межмолекулярного взаимодействия, за счет липидных «мостиков» или путем перехлеста фибрилл при замесе.

Прочные ассоциации клейковины могут возникать, главным образом, за счет ω -глиадинов. В составе таких ассоциатов, вероятно, находятся все низкомолекулярные белковые компоненты, в том числе растворимые белки и липиды, легко извлекаемые из клейковины обычными растворителями (растворами солей, 70%-ым этанолом). Они могут играть роль пластификаторов, заполняя трехмерную сеть клейковины и придавая ей эластичные свойства (Конарев, 1980).

Прочные белковые и белково-липидные ассоциации дает и глютенин. Одним из продуктов такой ассоциации являются структуры глютенина, включающие неглиадиновые субъединицы – полипептиды альбуминовой или глобулиновой природы. Эти структуры – основа гелъпротеина, или нерастворимого глютенина UPP (Don et al., 2003), который

распадается только в присутствии ионов ртути. С ним связана устойчивость теста к замесу и другие ключевые параметры качества клейковины (Sapirstein, Suchy, 1999).

Не менее прочные ассоциации образует глютенин с липидами мембранных структур цитоплазмы, главным образом за счет сил гидрофобного взаимодействия с ω -глиадиноподобными субъединицами. Такие ассоциации скрепляются дисульфидными сшивками, возникающими между содержащими цистеин α -, β - и γ -глиадиноподобными субъединицами глютеина и структурными белками фрагментов мембран. Субъединицы глютеина из этих комплексов могут быть выделены только после обработки их β -меркаптоэтанолом. Прочные белковые и белково-липидные комплексы глютеина в клейковине ответственны за устойчивость теста к замесу и действию факторов, ослабляющих клейковину.

На протяжении всего биохимического периода в изучении клейковины главными силами связывания белков в единый комплекс считают окисление SH-групп с образованием межмолекулярных дисульфидных сшивок. Это находило подтверждение в том, что все окислители, способные превращать тиоловые группы в дисульфидные, улучшают (укрепляют) клейковину и, наоборот, восстановители, разрывающие SS-связи, ослабляют ее, нарушают вязко-эластичные свойства клейковины (Конарев, 1980; Труфанов, 1994; Shewry, Tatham, 1997).

Восстановление SS-связей у глиадина влияет лишь на структурное состояние молекул, у глютеина вызывает распад крупных компонентов на молекулы, которые по размерам примерно соответствуют глиадину и другим простым белкам. На этом основании принято считать, что в глиадине все дисульфидные связи внутримолекулярные, в глютеине – межмолекулярные и внутривитрипептидные.

Улучшение свойств клейковины и теста окислителями происходит, во-первых, за счет «реставрации» нарушенных, преимущественно лабильных дисульфидных связей и, во-вторых, путем блокирования свободных SH-групп и устранения возможности их вступать в обмен с SS-связями глютеина. В пользу такого представления свидетельствует следующее: многие реагенты, не являющиеся окислителями, но блокирующие тиоловые группы, влияют на реологию теста точно так же, как окислители (Конарев, 1980).

1.3.4. Система ферментов тиол - дисульфидного обмена в зерновке пшеницы

Различные ферментные системы и окислительно-восстановительные агенты с низкой молекулярной массой связаны с фолдингом и полимеризацией проламинов в зрелых зернах пшеницы и формированием хлебопекарного качества (Osipova et al., 2012). Протеин дисульфид изомеразы (PDI) и циклофилины ускоряют «правильное» свертывание

проламинов, что, скорее всего, необходимо для последующего образования макромолекулярной структуры белковой матрицы клейковины. PDI также участвуют в полимеризации проламинов, катализируя окисление белковых сульфгидрильных групп. Молекулярный шаперон-связывающий белок ViP облегчает фолдинг проламинов и его роль увеличивается в стрессовых условиях. На различных стадиях созревания зерна редокс баланс и скорость полимеризации проламинов регулируют редукционные системы тиоредоксина и глутаредоксина, LMW редокс пары GSH / GSSG и Asc /DHAsc, а также ферменты POX, глюкозооксидаза (GOX), ЛОГ, ДГАР, полифенолоксидаза (PPO), APOX, КАТ, тиолпротеиндисульфид оксидоредуктаза (ТПДО), ГР, тиоредоксин редуктаза, тиолоксидаза и другие.

Высокая вариабельность хлебопекарного качества пшеницы в различных условиях окружающей среды может быть обусловлена взаимодействием лабильных ферментных систем с запасными белками в развивающемся зерне пшеницы (Rani et al., 2001; Dunnewind et al., 2002; Every et al., 2006).

Уровни активности некоторых ферментов коррелирует с технологическими параметрами зерна и связаны с хлебопекарным качеством муки. ЛОГ улучшает тестосмесительные параметры и увеличивает объем хлеба окислением белков клейковины посредством реакций свободных радикалов (Faubion, Hoseneu, 1981). PPO укрепляет тесто путем полимеризации белков, связывая окисленные продукты тирозиловых остатков и тиоловые группы. Этот фермент ответствен за потемнение хлеба из цельного зерна пшеницы и рисового хлеба (van Oort, 1996). POX и КАТ разрушают гидропероксиды, являющиеся сильными ингибиторами ЛОГ, и таким образом увеличивают ее положительное влияние. POX также окисляет связанные остатки феруловой кислоты на арабиноксилане и образует вторичную пентозановую сеть сквозь клейковинную сеть, что улучшает тесто и хлебное качество (van Oort, 1996). ДГАР, APOX, глутатион и окисленный глутатион являются важными компонентами в хлебопечении, когда аскорбиновая кислота используется в качестве улучшителя. APOX катализирует окисление аскорбиновой кислоты до дигидроаскорбиновой кислоты, которая в свою очередь окисляет тиолы белков клейковины (Every et al., 2003) что влияет на свойства хлеба. Окисление глутатиона дегидроаскорбиновой кислотой катализируется ДГАР. Дегидроаскорбиновая кислота окисляет также PDI, которая катализирует образование и перегруппировку термодинамически напряженных дисульфидных связей. ТПДО катализирует восстановление дисульфидных связей в белках в присутствии восстановленного глутатиона, образование которого путем НАДФН-зависимой регенерации окисленного глутатиона катализирует ГР.

Тиоредоксинредуктаза катализирует восстановление SS-связей в белках в присутствии тиоредоксина и НАДФН. Тиолоксидаза катализирует кислород-зависимое окисление тиоловых групп в дисульфидные связи с образованием дисульфида и перекиси водорода.

Влияние окислительных ферментов было показано, в основном, при экзогенном их применении. Действие экзогенных оксидативных ферментов укрепляет полимерную сеть теста и улучшает реологические свойства (Dunnwind et al., 2002). Применение вместо химических оксидантов таких ферментов, как ЛОГ, РОХ, ГОХ, является перспективным способом улучшения теста в технологии хлебопечения.

Также было исследовано распространение некоторых эндогенных окислительно-восстановительных ферментов в различных фракциях помола муки и их связь с хлебопекарными параметрами (Every et al., 2006). Уровни ЛОГ, ДГАР и РДИ были выше в конечных фракциях помола, наиболее высокие уровни были в отрубях и зародышевой фракции. Эти ферменты имели средние и сильные корреляции с содержанием золы муки. Значительные количества этих ферментов в конечных фракциях помола муки явились результатом загрязнения муки отрубями, алейроновым или зародышевым компонентами муки. Уровни РОХ также были выше в одной из конечных фракций помола, а РРО и АРОХ равномерно распределены во всех фракциях муки. Эти три фермента имели низкие корреляции с золой и хлебопекарными параметрами. ЛОГ и ДГАР показали отрицательную корреляцию с хлебопекарным качеством. Отрицательная корреляция, вероятно, отражает высокое содержание золы, глутатиона и белковых тиолов в тех фракциях, которые имели высокие уровни ЛОГ и ДГАР. Эти факторы, уменьшающие активность ферментов могли быть причиной плохого качества хлеба. В отсутствие аскорбиновой кислоты РДИ имела низкую корреляцию с качеством хлеба, а в присутствии аскорбиновой кислоты положительно коррелировала с признаками качества.

1.3.5. Липиды в хлебопечении

Реорганизация липидов при образовании пшеничного теста. Липиды семян проявляют большое структурное разнообразие (рис. 15). Несмотря на то, что липиды являются незначительными компонентами пшеничной муки (около 2 – 2.5 % сухого веса), они оказывают значительное воздействие на муку и функциональность теста (Pareyt et al., 2011). Липиды диспергированы в пшеничной муке неомогенно, так как это зависит от распределения и организации клеток и тканей зерна (рис. 15). При добавлении воды к муке во время замеса теста происходит водо-зависимая реорганизация липидных и липопротеиновых агрегатов, подобная той, что происходит, когда вода проникает в зерно при прорастании – образуются ламеллярные везикулы. В пшеничном тесте наблюдаются

многочисленные масляные капли, которые соответствуют липидным телам (олеосомам) алейронового слоя и зародыша. В конце замеса теста в клейковине наблюдаются только капли масла и липидные везикулы (Marion et al., 2003). Эти изменения приводят к лучшей дисперсии липидов (особенно полярных) в тесте.

Во время смешивания теста, гидратированные частицы муки больше не существуют как отдельные единицы (Delcour, Hoseneу, 2010). При оптимальном перемешивании, развивается тесто благодаря клейковинным белкам, изначально присутствующим в муке. Частицы образуют непрерывную сеть, в которой рассеяны гранулы крахмала. Другой аспект перемешивания теста - включение воздуха (Delcour и Hoseneу, 2010). Поскольку диоксид углерода, производимый дрожжами во время брожения и расстойки, может только диффундировать к предварительно существующим пузырькам воздуха, процесс инкорпорации воздуха в течение замеса теста чрезвычайно важен, поскольку это в значительной степени влияет на конечную структуру мякиша.

На первых этапах смешивания, около 70% липидов муки становятся связанными или находятся «в ловушке» внутри клейковинной фракции, большинство из которых свободные липиды (полярные и часть неполярных). В пределах клейковины, глиадин и глютеин связываются с различными типами свободных полярных липидов. Экспериментальное исследование с использованием экстракции белков уксусной кислотой предложило, что галактолипиды взаимодействуют с глютелином через гидрофобные и водородные взаимодействия, в то время как фосфолипиды взаимодействуют с глиадином или липид-связывающими белками клейковины (McCann и др., 2009).

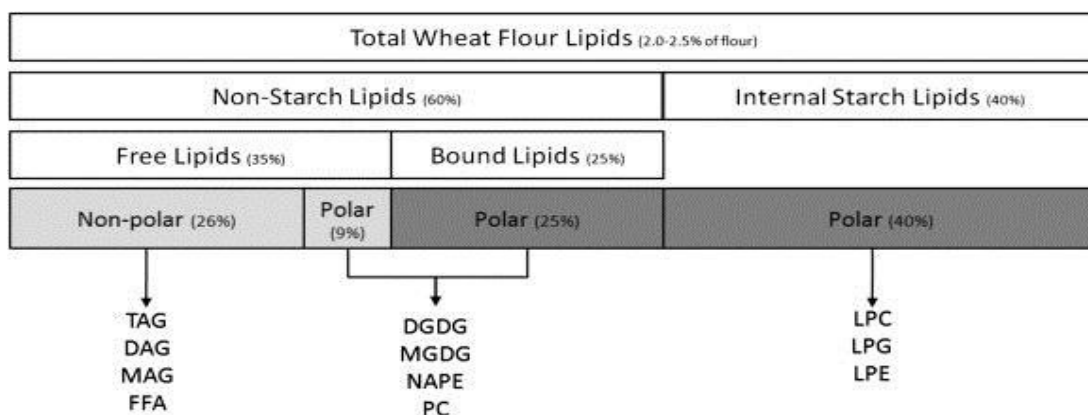


Рис 15. Разделение липидов пшеничной муки на основе экстракции свободных, связанных и внутри-крахмальных липидов (Pareyt et al., 2011)

Светло-серые текстовые поля указывают на липиды, экстрагированные неполярными растворителями, тогда как темно-серые текстовые поля указывают на липиды, экстрагированные полярными растворителями. TAG, триацилглицерины; DAG, диацилглицерины; MAG, моноацилглицерины; FFA, свободные жирные кислоты; DGDG, дигалактозилдиглицерины; MGDG, моногалактозилдиглицерины; PC, фосфатидилхолин; NAPE, N-ацил-фосфатидилэтаноламин; LPC, лизофосфатидилхолин; LPE; лизофосфатидилэтаноламин; LPG лизофосфатидилглицерол.

Функциональная роль липидов. Связывание изначально свободных полярных липидов с клейковинными белками определяет их функциональную роль в хлебопечении, обеспечивая их способность выравнивания газовых клеток во время начальных фаз перемешивания теста и увеличение стабильности газовой ячейки на протяжении всего процесса выпечки хлеба.

Текстура хлебо-булочных продуктов тесно связана с расширением пузырьков газа на стадиях расстойки и выпечки. Сканирующая электронная микроскопия показывает, что при расширении газовые пузырьки отделены от клейковинного матрикса только тонкой пленкой водной межламеллярной фазы (Gan et al., 1990). Перед желатинизацией крахмала и образованием твердого спонжа в хлебе, эти тонкие пленки, вероятно, стабилизированы адсорбированными слоями поверхностно-активного материала. Растворимые белки, т.е. альбумины и глобулины, и полярные липиды, являются поверхностно-активными компонентами водной фазы теста (MacRitchie et al., 1983). Распространение и стабильность липидных и белково-липидных пленок играют важную роль во время подготовки и выпечки хлеба и бисквитов.

MacRitchie с сотрудниками (1983) выявили тесную связь между действием липидов пшеницы на объем хлеба и их влиянием на пенообразующие свойства водной фазы теста. Неполярные липиды, такие как ТАГ и СЖК, которые являются пеногасителями, также отрицательно влияют и на объем хлеба. Напротив, высокое содержание полярных липидов (выше порогового) улучшает как пенообразующие свойства водной фазы теста, так и объем теста и хлеба (Sroan, MacRitchie, 2009). Перенос липидных везикул из водной фазы теста на границу воздух-вода или масло-вода, является ключевым механизмом для выражения липидной функциональности (Marion et al., 2003). Этот переход находится под контролем липид-липидных и липид-белковых взаимодействий, которые определяют пенообразующую способность липидов и липопротеинов.

Хлебопекарная функция липид-трансферных белков. С 1990 года с использованием мягкой биохимической экстракции и процедуры фракционирования, два основных семейства липид-связывающих белков были выделены из пшеничной муки, LTP и ПИН. Оба семейства белков принадлежат к альбуминам.

Технологические функции LTP были продемонстрированы в технологии пивоварения. LTP1 является одним из основных белков пива, который участвует в формировании и стабильности пены (Sorensen et al., 1993). В процессе хлебопечения, LTP могут играть определенную роль в равновесии между липидами в водной фазе теста и тонких пленок, образующихся на границе воздух- и масло-вода. Такое явление было подчеркнuto

исследованиями монослоев (Subirade et al., 1995). Поскольку ЛТР способны связывать СЖК, они могут предотвращать дестабилизацию пены теста этими липидами (Cooper et al., 2002). Как отмечалось для пива, денатурация, индуцированная окислительно-восстановительными агентами, добавленными в состав хлеба (например, аскорбиновая кислота) могут улучшать поверхностно-активные свойства ЛТР в водной фазе теста. Наконец, ЛТР может сыграть свою роль в активности липазы и ЛОГ, которые работают на границе масло-вода (Marion et al., 2003).

ПИН, как и ЛТР, являются поверхностно-активными белками, которые адсорбируют спонтанно в интерфейсе воздух-вода (Biswas et al., 2001) и образуют очень стабильную пену (Douliez et al., 2000), примерно в десять раз выше, чем стабильность пены яичного белка (Husband et al., 1994). Однако наиболее интересной особенностью пены ПИН является ее высокая устойчивость к дестабилизации липидами (Dubreil et al., 2002). ПИН приводят к мягкости хлеба с однородной структурой, состоящей из мелких газовых ячеек (Dubreil et al., 1998) как и мелкие пузырьки, наблюдаемые в пене ПИН. ПИН также вызывают значительные изменения в реологических свойствах теста из муки пшеницы, например, увеличение упругости и уменьшение растяжимость теста (Dubreil et al., 1998; Bahal et al., 2013). Адсорбция ПИН в водно-липидном интерфейсе может активировать ферменты, например, липазы и ЛОГ, которые работают в этих интерфейсах, и, которые, как известно, оказывают влияние на реологию теста (Marion et al., 2003), как это было отмечено выше для ЛТР.

Сегодня у нас есть относительно хорошее общее представление о механизмах, которые объясняют роль липидов и белково-липидных взаимодействий в процессе переработки зерна и в качестве зерновых продуктов. Хотя некоторые механизмы все еще гипотетические, имеются новые возможности для повышения функциональности липидов с помощью ферментов (например, липазы и ЛОГ) и контроля липид-белковых взаимодействий с помощью конкретных липид-связывающих белков, например, ЛТР и ПИН. Чтобы выполнить эти задачи, необходимо учитывать соответствующие гены в будущих селекционных программах. С липид-трансферными белками, и особенно с ПИН, мы имеем альтернативу манипуляции генами запасных белков с целью улучшения хлебопекарного качества пшеницы. Кроме того ЛТР и ПИН также интересны в агрономии, так как они участвуют в устойчивости растений против патогенных микроорганизмов (Morris, 2002; Blein et al., 2002).

1.3.6. Влияние липоксигеназы на хлебопекарные свойства мягкой пшеницы

Сочетание окисления цистеин-содержащих запасных белков (свободные группы SH клейковинных белков) и ПНЖК ферментом ЛОГ вызывают изменения реологических

свойств теста и особенно улучшают устойчивость теста к замесу. Кроме того, ЛОГ вызывает обесцвечивание пигментов муки и образование белой мякоти хлеба (Hayward et al., 2017). Эти эффекты возрастают с увеличением интенсивности замеса теста и присутствия субстратов ЛОГ ПНЖК. Такие липиды естественным образом присутствуют в пшеничной муке, но могут быть образованы из других ацилированных липидов, таких как ТАГ, фосфолипиды и гликолипиды под действием липаз. ЛОГ и липазы в основном расположены в зародыше, но могут быть добавлены в тесто в виде соевой или гороховой муки.

Исследование влияния соевой ЛОГ на качество пшеничного теста показало, что добавленный фермент (в виде соевой муки или частично очищенной соевой ЛОГ) улучшал реологические, хлебопекарные и питательные свойства теста из пшеничной муки (Hoseney et al., 1980; Faubion, Hoseney, 1981). ЛОГ соевой муки, добавленная к пшеничной муке, действовала как обесцвечивающий агент, увеличивала устойчивость к замесу и улучшала реологию теста. Обесцвечивающее действие происходит посредством окисления пигментов кислородом воздуха, катализируемого ЛОГ. Механизм, по которому ЛОГ увеличивает устойчивость теста к замесу, не вполне понятен, но ясно, что в этот процесс вовлечены липиды. ЛОГ не изменяла свойств обезжиренной муки, показывая, что для действия ЛОГ требуются свободные липиды. Добавление к обезжиренной муке ЛК восстанавливало действие ЛОГ. При добавлении в муку липидов, экстрагированных из теста, обработанного ЛОГ, устойчивость к замесу теста уменьшалась.

Кислород не требовался для преодоления негативного воздействия быстродействующих оксидантов или для активирования соединений с двойными связями, но он был необходим для улучшения реологических характеристик теста. ЛОГ действовала на устойчивость теста к замесу путем образования свободных радикалов у некоторых липидов, конкурирующих за вещества, активирующие двойные связи, эндогенные в муке или образованные быстродействующими оксидантами. В экспериментах с радиоактивной фумаровой кислотой было показано, что ЛОГ мешала связыванию фумаровой кислоты с белками клейковины в процессе замеса теста. Улучшающее влияние ЛОГ на реологические свойства теста объясняли окислением сульфгидрильных групп перекисями ЖК, образованными действием ЛОГ на липиды, однако было показано, что нордигидрогуаретиновая кислота, значительно ингибировала образование пероксидов, но только незначительно ухудшала реологический эффект (Hoseney et al., 1980; Faubion, Hoseney, 1981).

Frazier (1983) показал, что замена свободных липидов муки перекисными липидами не оказывает влияния на реологические свойства теста. На основании этих результатов было

высказано предположение о том, что радикальный интермедиант, образующихся в процессе катализируемой ЛОГ липидной оксигенации, был ответственен за окисление -SH групп в тесте во время замеса. В дополнение к образованию дисульфидных связей, окисленные тиоловые фрагменты могут также образовывать сшивки с водорастворимыми пентозанами, с помощью феруловой кислоты, этерифицированной с арабиноксиланами, чтобы сформировать вязкие гели в процессе, известном как окислительное гелеобразование (Izydorczyk, Biliaderis, 2006). Сшивки происходят только в присутствии окислителей, способных производить свободные радикалы, а не в присутствии общих оксидантов - йодата калия, бромата калия, или аскорбиновой кислоты. Поэтому окислительное гелеобразование является альтернативным механизмом, посредством которого ЛОГ улучшает реологические свойства теста, основанные на формировании реакционноспособных промежуточных продуктов при оксигенации ЛК (Izydorczyk, Biliaderis, 2006; Ren et al., 2015).

Было изучено влияние на реологические и хлебопекарные характеристики соевых изоферментов ЛОГ L1, L2 и L3. L1 действовал на свободные ПНЖК, тогда как L2 и L3 - на связанные (Cumbee et al., 1997). Для выяснения роли пшеничной ЛОГ в хлебопечении были выделены, очищены и охарактеризованы три основные изоформы ЛОГ (L-1, L-2 и L-3) и минорный изофермент (L-a) из зародышей пшеницы (Shiiba et al., 1991). Было изучено влияние каждого изофермента на хлебопекарные свойства пшеничной муки. Мука, обработанная очищенными изоформами ЛОГ, обладала более высокой пузыреобразующей активностью (ПА), чем контрольная мука без ферментной обработки. Образцы, обработанные изоформой L-3, имели наиболее высокую ПА. Взаимосвязь между ПА и активностью ЛОГ была значительной, то есть фермент влиял на реологические свойства. Влияние добавления изоформы L-3 к муке было подобно, но менее заметно, чем добавление быстродействующих оксидантов, таких как иодат калия.

В белках муки, обогащенной каждой из очищенных изоформ ЛОГ, обнаружено более низкое содержание SH-групп и более высокое содержание SS-связей, чем в белках контрольной муки. Это является следствием окисления ферментом SH-групп белков. Содержание SH-групп не различалось у образцов муки, обработанных этими тремя изоформами ЛОГ. Хлеб, выпеченный из муки, обработанной изоформой L-3, имел самый большой объем. Изоформы L-1 и L-2 мало влияли на объем хлеба, но его мякиш и корочка были светлее. Таким образом, каждая изоформа фермента может играть различную роль в хлебопечении. Наиболее значительное влияние на хлебопекарное качество пшеницы оказывает изоформа L-3.

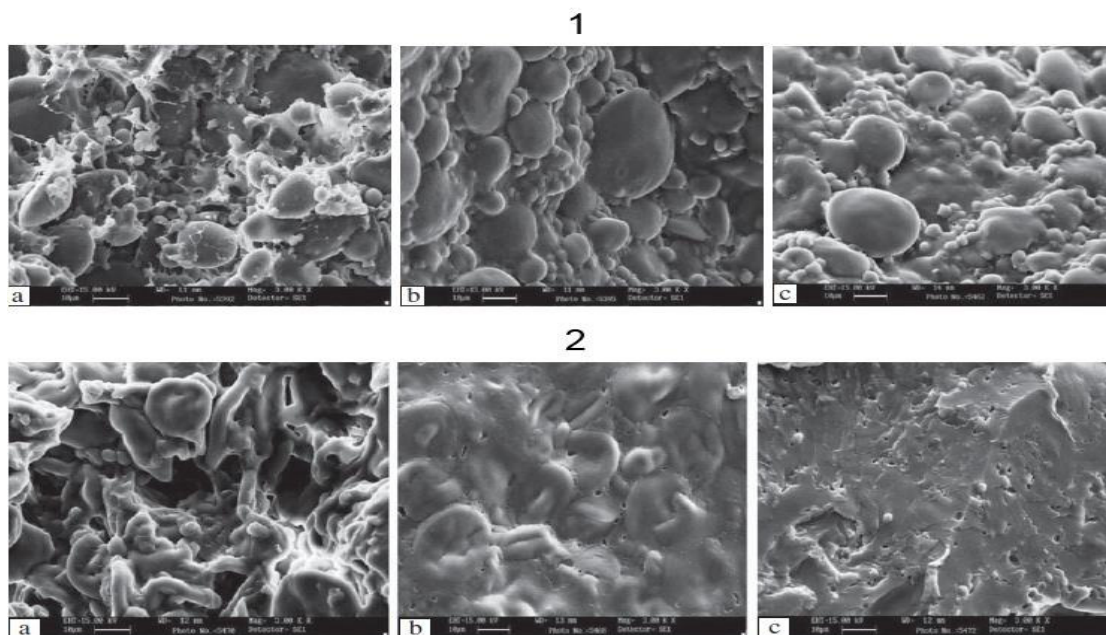


Рис. 16. Сканирующая электронная микрофотография (1) хлебное тесто после замеса; (2) хлеб; (a) контроль; (b) 500 ед. ЛОГ; (c) 1000 ед. ЛОГ. (Bahal et al., 2013)

Активность ЛОГ в ферментированном тесте может быть связана с гидрофобностью белков. Реологические изменения во время ферментации, вероятно, являются следствием уменьшения поверхностной гидрофобности растворимых глютеинов, вызванного связыванием продуктов окисления ЛОГ. Миксограммы муки, обработанные изоформами ЛОГ (особенно L-3), показали более короткое время формирования теста и меньшее сопротивление теста при максимальной консистенции. По мере усиления ферментации обработанное тесто проявляло меньшую сопротивляемость к растяжению, сопутствующую повышенной активности ЛОГ.

Bahal и сотрудники (2013) показали, что добавление ЛОГ, экстрагированной из обезжиренного зародыша пшеницы, увеличивало ВПС и стабильность теста. Хлеб с ЛОГ был большего объема, более мягким, с более яркой крошкой. Добавление клейковины вместе с ЛОГ выявило синергический эффект. Сканирующие электронные микрофотографии теста и хлеба с добавлением фермента, продемонстрировали улучшение сети клейковины (рис. 16).

Известна положительная роль ЛОГ при производстве хлеба с добавлением отрубей. Отруби оказывают негативное влияние на объем хлеба. Ответственным за это явление считают взаимодействие между ЛОГ, глутатионом и метоксилгидроквиноном. Было показано, что эндогенная ЛОГ (активирование обработкой ЛОГ немучных фракций) или экзогенная ЛОГ (ферментно-активная соевая мука) при определенных условиях окисляла глутатион зерна, улучшая качество хлеба с добавлением отрубей (Lai et al., 1989). Было показано, что различные обработки отрубей (гидратация, «влажное» тепло и «влажное»

окисление) могут активировать ЛОГ, которая действует на потенциально способные к окислению субстанции, уменьшая неблагоприятный вклад отрубей в тесто «коричневого» (волокнуто-богатого) хлеба и улучшая его качество (Nelles et al., 1998).

1.3.7. Генетика хлебопекарных свойств пшеницы

Поскольку ведущую роль в формировании клейковины пшеницы играют запасные белки, главными по значению в генетическом контроле качества, несомненно, являются 1-я и 6-я гомеологические группы хромосом пшеницы, которые содержат структурные гены, кодирующие синтез компонентов глиаина и субъединиц глютеина (Payne et al., 1984). Глиаины контролируются полигенными локусами *Gli-1* на коротких плечах хромосом 1-й гомеологической группы и *Gli-2* на длинных плечах хромосом 6-й гомеологической группы. HMW-GS кодируются локусом *Glu-1*, расположенном на длинных плечах хромосом 1A, 1B и 1D. LMW-GS кодируются локусом *Glu-3*, тесно сцепленным с *Gli-1* (Singh, Shepherd, 1988).

На примере двойной гаплоидной популяции (Cornish et al., 2001) было показано, что аллели *Glu-1* вносят главный вклад в показатель Сила муки. Растяжимость теста была тесно связана с количеством глютеина, которое зависит от сорта пшеницы и условий среды в период налива и созревания зерна. Аллели *Glu-3* модифицировали уровни Растяжимости с комбинациями частичного их изменения. HMW-аллели вносили главный вклад в Силу муки, а LMW-аллели – минорный вклад в Силу муки, но значительный вклад в Растяжимость теста.

Три популяции РИЛ были использованы для количественного анализа и картирования с использованием ДНК-маркеров следующих параметров: Общий белок, Объем седиментации, Время образования теста и Объем хлеба (Rousset et al., 2001). Три последних параметра были связаны с высокомолекулярной глютеиновой субъединицей локуса *Glu-A1* на хромосоме 1A. ЛКП для Времени образования теста и Объема хлеба были идентифицированы на дистальном конце длинного плеча хромосомы 1A. Параметры Содержание общего белка и Время образования теста были картированы на длинном плече хромосомы 1B. Объем седиментации, Время образования теста и Объем хлеба ассоциировались с областью глиаина и низкомолекулярных глютеиновых субъединиц локуса *Gli-B1/Glu-B3*. На коротком плече 1B картировался параметр Объем хлеба. Локусы для Содержание общего белка находились в xTr1-центромерно связанной группе 1D и в области *Glu-D*. В противоположность общепринятому убеждению, что качество пшеницы обусловлено главным образом вариантами локусов *Glu-A1*, представленные результаты показали, что параметры качества находятся под комплексным контролем, а локус *Glu-A1* – только часть их генетического контроля.

Содержание белка в зерне – очень важный показатель у хлебной пшеницы. Этот признак контролируется генетическими факторами, но условия окружающей среды значительно влияют на экспрессию его генов. Используя средние данные для пяти местоположений РИЛ, был идентифицирован ЛКП для содержания белка на хромосоме 3D (Prasad et al., 2003). Стабильные ЛКП для содержания белка были идентифицированы на хромосомах 2A, 3A, 4 D и 7D. В геноме дикорастущей пшеницы *T. dicoccoides* был идентифицирован ген *Gpc-B1*, обеспечивающий высокое содержание белка в зерне, который удалось передать мягкой пшенице (Deckard et al., 1996). Этот ген детально изучен и для него разработаны диагностические маркеры, используемые в селекции пшеницы (Vishwakarma et al., 2014). Молекулярно-генетическое картирование позволило выявить и другие гены (локусы), контролирующие высокое содержание белка, например *QGpc.ipk-7B* (Khlestkina et al., 2009), *QGlc.ipk-5B* и *QGlc.ipk-7A* (Пшеничникова и др., 2008).

M1000з – важный параметр зерновой продуктивности и мукомольный показатель, определяющий выход муки при размоле. Для этого признака картировано множество локусов в геноме пшеницы, почти в каждой хромосоме. Практического внимания заслуживают локусы, для которых подобраны диагностические ДНК-маркеры. В частности, гены *TaCwi-A1* (Ma et al., 2012) и *TaGW2-6A* (Su et al., 2011) были идентифицированы в хромосомах 2A и 6A пшеницы путем поиска соответствующих генов-ортологов из генома риса. В селекции также может быть использован локус *QTgw.ipk-7D*, перенесенный в сорт мягкой пшеницы Prinz от синтетического гексаплоида. Он был картирован в интервале микросателлитных локусов *Xgwm295-Xgwm1002* дистального района хромосомы 7DS (Röder et al., 2008). С использованием популяции РИЛ, полученной от скрещивания Rye Selection 111 и ЧС, локусы, контролирующие M1000з, идентифицированы на хромосомах 1A, 1D, 2B, 4B, 5B, 6B, 7A и 7D (Varshney et al., 2000).

Твердозерность, определяемая диаметром частиц муки при размоле, контролируется локусом *Ha*, который находится в коротком плече хромосомы 5D. Он содержит в своем составе несколько генов: *Pina-D1* и *Pinb-D1*, кодирующих белки ПИНа и ПИНб, и ген *GSP1*, кодирующий белок «мягкозерности». Степень твердозерности пшеницы проявляется в зависимости от сочетания разных аллелей генов *Pina-D1* и *Pinb-D1* (Chen et al., 2006). Диагностические маркеры к генам *Pina* и *Pinb* используют для оценки селекционного материала и сортовых коллекций (Chen et al., 2006; Eagles et al., 2006).

С помощью РИЛ ITMI был изучен целый ряд морфологических, физиологических и стресс-зависимых признаков (Nelson et al., 1995; Li et al., 1999; Börner et al., 2002), а также признаков качества клейковины (Nelson et al., 2006; Пшеничникова и др., 2006). Зерно 114

линий ITMI, выращенное в США, Франции и Мексике было исследовано на параметры текстуры зерна, Содержание белка, Силу муки и параметры замеса теста (Nelson et al., 2006). Только параметры текстуры зерна показали сходный генетический контроль во всех местоположениях. Лocus твердозерности (*Ha*) на коротком плече хромосомы 5D был связан также со способностью удержания щелочной воды и выходом муки. На Силу муки сильно влияли аллели локуса на хромосоме 5DS, близкие или идентичные локусу *Ha*. Содержание белка было связано с глиадиновым локусом *Gli-D2* на хромосомном плече 6DS. В выращенном в Мексике материале locus на хромосоме 2DS около фоточувствительного гена *Ppd1*, отвечал за 25 % ФВ по белку. Параметры миксографа показали наибольшее влияние хромосомных областей, содержащих локусы глиадина или низкомолекулярного глютеина на хромосомных плечах 1AS, 1BS и 6DS.

Главный locus для многих смесительных характеристик теста был найден при использовании канадской картирующей популяции в хромосоме 4D в районе локуса *Xwmc52* (McCartney et al., 2006). Схожее с ним расположение в хромосоме 4D в районе маркера *Xgwm165* имел locus, ассоциированный с Силой муки и Упругостью, выявленный у сорта Саратовская 29, обладающего великолепными реологическими свойствами теста (Pshenichnikova et al., 2012).

Один из основных компонентов пшеничной муки – крахмал. Ключевым ферментом в синтезе амилозы является гранулозванная синтетаза крахмала I (GBSS I), которую кодируют гены *Waxy* (*Wx-A1*, *Wx-B1* и *Wx-D1*). В настоящее время разработан ряд диагностических маркеров для мутантных вариантов генов *Waxy* (Nakamura et al., 2002), которые позволяют управлять соотношением амилозы и амилопектина у создаваемых генотипов пшеницы, и были включены в селекционный процесс (Randhawa et al., 2013).

Практически в каждой хромосоме пшеницы найдены локусы, которые влияют на окраску пшеничной муки (Balyan et al., 2013), которая зависит от содержания каротиноидов (Parker, Langridge, 2000). Гены пшеницы, участвующие в биосинтезе каротиноидов, хорошо известны (Ficco et al., 2014). Предложен ряд ДНК-маркеров для отбора генотипов с заданным уровнем каротиноидов и цветом муки (Parker, Langridge, 2000; Elouafi et al., 2001; He et al., 2009).

Обесцвечивание муки может быть обусловлено высокой активностью ЛОГ семян (Borrelli et al., 1999), связанной с локусом в хромосоме 4BS пшеницы (Hessler et al., 2002; Zhang et al., 2015). Разработаны ДНК-маркеры для контроля активности этого фермента (Carrera et al., 2007; Zhang et al., 2015).

Потемнение продуктов, произведенных из муки, может быть связано с активностью фермента PPO (Zheng et al., 2013). Результаты, полученные Fuerst с коллегами (2008), указывают на потенциальную возможность корректировки уровня данного фермента на генетическом уровне.

Постоянно идут исследования по разработке новых маркеров, например, Liu и сотрудники (2014) маркировали 27 локусов, связанных с технологическими свойствами зерна и муки озимой пшеницы. Поиск проводится как среди имеющегося генофонда мягкой пшеницы, так и с привлечением близкородственных видов пшениц и эгилопсов (Kunert et al., 2007; Garg et al., 2014; Pshenichnikova et al., 2015).

Таким образом, качество зерна и муки – это комплексный признак, имеющий количественное проявление и определяемый многими генами, в большинстве своем еще неизвестными, экспрессия которых в значительной мере определяется условиями среды. По этим причинам генетическое изучение качества клейковины является актуальной и сложной задачей, решение которой необходимо в селекции для направленного отбора генотипов пшеницы с высоким качеством зерна (Хлесткина и др., 2017).

Заключение к обзору литературы

Окисление ПНЖК связано с развитием растений и их реагированием на разнообразные и изменчивые внешние условия. Важный класс гидролизующих липиды ферментов у растений составляют липоксигеназы. Они являются частью защитного механизма растений при стрессах (Siedow et al., 1991; Porta et al., 1999), принимают участие в разных стадиях вегетативного роста (Griffiths et al., 1999; Kolomiets et al., 2001; Feussner et al., 2001) и могут использоваться как вегетативный запасной белок (Tranbarger et al., 1991). В последнее время произошло значительное углубление нашего понимания ферментативных реакций ЛОГ (Ivanov et al., 2010), однако их физиологическое значение изучено еще недостаточно. Сведений о физиологической роли липоксигеназ пшеницы крайне мало.

Широкомасштабные исследования геномики, транскриптомики, протеомики, метаболомики и липидомики привели к новому пониманию того, как растения реагируют на биотические или абиотические стрессоры и как программы роста и развития реализуются в жизненном цикле растений. Существенная роль в рамках такого программирования принадлежит растительным гормонам. Среди них, производные метаболического пути ЛОГ – жасмонаты, привлекают большое внимание. Многие из них изменяют экспрессию генов положительно или отрицательно в регулирующей сети с синергическими и антагонистическими эффектами в отношении других растительных гормонов, таких как

АБК, салицилат, ауксин, этилен. В последнем десятилетии были идентифицированы важные компоненты жасмонатной сигнализации, включая его рецептор и факторы транскрипции, действующие на передачу сигналов ЖАК (Wasternack, Hause, 2013). Однако объяснение комплексной природы сети жасмонатной сигнализации при стрессе и развитии растений, включая взаимодействие сигнальных путей фитогормонов, еще недостаточно. Крайне мало данных о жасмонатном сигналинге при абиотическом стрессе и отсутствуют сведения по пшенице.

Численное и структурное, а также функциональное разнообразие липоксигеназ позволяет растениям адекватно реагировать на вызовы окружающей среды и не только метаболизировать его липиды, но и вводить новые функциональные возможности в эти важные биомолекулы (Göbel, Feussner, 2009; Mosblech et al., 2009). Имеются сведения о способности образованных ЛОГ оксипептидов модулировать биологическую активность липид-переносящих белков (Osman et al., 2001b; Buhot et al., 2003). Данные о взаимосвязи между функциональностью пуриноидов, специфических липид-связывающих белков гексаплоидной пшеницы, и активностью ЛОГ отсутствуют.

Из-за быстрого прогресса в структурной и функциональной геномике, гены ЛОГ идентифицируются и изучаются в увеличивающемся числе видов животных и растений. Однако еще недостаточно знаний относительно изоферментов ЛОГ и кодирующих их генов в сельскохозяйственных растениях со сложным полиплоидным геномом, таких как гексаплоидная пшеница. На сегодняшний день частично или полностью секвенированы восемь ЛОГ, клонированные из твердой пшеницы (Hessler et al., 2002; Carrera et al. 2007; Zhang et al. 2008 Garbus et al. 2009; Verlotta et al. 2010). Четыре последовательности ЛОГ были идентифицированы и аннотированы в геноме *T. aestivum* L. (Garbus et al., 2009, 2013). Данные о генах биосинтеза других изоферментов ЛОГ в геноме пшеницы отсутствуют. Необходимо расширение знания о генах ЛОГ у *T. aestivum* и их физиологических функциях.

Также совершенно отсутствуют данные о регуляторных генах ЛОГ пшеницы. Однако в условиях стресса понимание генетической регуляции ферментативной активности ЛОГ имеет особое значение, так как она является частью обширной генной сети, активирующей транскрипционное перепрограммирование для достижения нового гомеостаза (Harb et al., 2010).

Одним из наиболее суровых абиотических стрессов, значительно ограничивающих зерновую продуктивность пшеницы, является засуха. В настоящее время сделаны большие успехи в расшифровке молекулярно-генетических механизмов, вовлеченных в реакции ответа растения на засуху (Nezhadahmadi et al., 2013; Khanna-Chopra, Singh, 2015; Gupta et al.,

2017; Gahlaut et al., 2016). Используя стратегии «омикс» в последние годы был идентифицирован ряд связанных с засухой белков, большинство из которых являются стрессовыми ТФ и преобразователями сигналов (Budak et al., 2013; Li et al., 2016; Wang et al., 2015; 2016). Недавно было показано, что при акклиматизации к водному дефициту главное значение имеет взаимодействие сигнальных путей АБК и ЖАК (de Ollas, Dodd, 2016).

Однако, несмотря на многочисленные исследования, генетическая основа устойчивости к засухе у пшеницы все еще неуловима. По-прежнему большое внимание уделяется идентификации генов и ЛКП, связанных с засухой, и исследованиям молекулярных путей для обеспечения засухоустойчивости. Анализ ЛКП выявил несколько хромосомных регионов, связанных с устойчивостью и адаптацией пшеницы к водному дефициту (Gupta, 2017). Большинство ЛКП связано с агрономическими признаками, а примеры картирования физиологических признаков немногочисленны (Barakat et al., 2015). В связи с этим, одновременное картирование в геноме пшеницы большого набора физиологических признаков, связанных с фотосинтезом, газообменом, антиоксидантной защитой и липидным метаболизмом в условиях засухи, может внести заметный вклад в изучение генетической регуляции устойчивости и адаптации пшеницы к засухе.

Физиологические признаки пшеницы, включая активность ЛОГ, – превосходный доступный инструмент для изучения засухоустойчивости, а фенотипирование по физиологическим признакам, наряду с обнаружением генов, может быть очень ценным, для картирования признаков и выявления желаемых аллелей (Maccafferri et al., 2008). Картирование ЛКП, ассоциированных с активностью ЛОГ в геноме пшеницы при оптимальных условиях и водном дефиците и определение кандидатных генов, может представить информацию о хромосомной локализации генов, связанных с липидным метаболизмом, которые влияют на устойчивость растений к засухе. Определение генетической основы взаимосвязей между активностью изоферментов ЛОГ и физиологическими признаками с использованием анализа ЛКП, прольет свет на механизмы регуляции устойчивости растений пшеницы к водному дефициту, связанные с липидным метаболизмом.

Из-за большого размера генома пшеницы и повторяющейся ДНК, клонирование генов, лежащих в основе ЛКП для различных признаков, связанных с засухоустойчивостью, немногочисленно (Rawat et al., 2016). Необходима дальнейшая характеристика генов, лежащих в основе ЛКП физиологических признаков пшеницы в условиях водного дефицита. Это поможет лучше понять молекулярный механизм адаптации и устойчивости к засухе и разработать функциональные молекулярные

маркеры для непосредственного использования в селекционных программах, направленных на улучшение засухоустойчивости.

Одомашнивание в значительной степени ограничило генетическое разнообразие сельскохозяйственных сортов пшеницы. Высокопродуктивные и устойчивые к засухе дикие копии современных сортов, в частности, дикорастущая пшеница (*T. dicoccoides*), и естественные предшественники культивируемых культур (*Ae. tauschii*) обладают большим потенциалом для улучшения *T. aestivum* (Ergen, Budak, 2009; Peleg et al., 2009; Jia et al., 2013). Этот потенциал может быть связан с изоферментами ЛОГ, что можно показать при изучении влияния интрогрессии диких злаков на активность ЛОГ и физиологические параметры пшеницы.

ЛОГ, в числе других окислительных ферментов, уже долгое время изучается и применяется для улучшения теста в технологии хлебопечения. Хотя многое было сделано, чтобы получить представление о механизме, посредством которого ЛОГ действует в качестве улучшителя, роль фермента в определении качества клейковины пшеницы остается недостаточно изученной и противоречивой (Hayward et al, 2016). Выявление роли ЛОГ в определении хлебопекарного качества мягкой пшеницы возможно на основе изучения корреляционных связей ферментативной активности с различными технологическими параметрами зерна, муки и теста и ко-локализации ЛКП этих параметров в геноме *T. aestivum* L.

Таким образом, в связи с недостаточностью сведений о липоксигеназах пшеницы, настоящая работа направлена на комплексное изучение этого фермента у гексплоидной пшеницы: изоферментный состав, физиологическое и хлебопекарное значение и генетическая регуляция активности различных форм фермента, локализованных в разных органах и клеточных компартментах растений пшеницы в изменяющихся условиях окружающей среды.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Объекты исследования и условия выращивания

Объекты исследований. Объектами исследований по изучению активности ЛОГ и физиологических параметров пшеницы служили различные сорта *T. aestivum* отечественной и зарубежной селекции, синтетические гексаплоиды и нескольких серий замещенных и рекомбинантных линий пшеницы:

1) Сорта Диамант 2 (Дм) и Новосибирская 67 (Н67), их линии с межсортовым замещением хромосом 1-й и 6-й гомеологических групп, созданные в лаборатории хромосомной инженерии злаков ИЦиГ СО РАН (Пшеничникова, Майстренко, 1990), а также двойная замещенная линия Дм/Н67 1A,6D (Maystrenko et al., 1998). Было использовано зерно, выращенное в климатических условиях Новосибирска в течение трех лет полевых вегетаций, а также зерно молочной и полной спелости, выращенное в 1997 году в климатических условиях Иркутска. Использовали для изучения влияния отдельных пар хромосом на активность ЛОГ и параметры качества клейковины.

2) сорта Саратовская 29; Janetzki Probat (Янецкис Пробат, JP, ЯП); Chinese Spring (Чайниз Спринг, CS, ЧС); Cappelle-Despres (CD); Безостая (Без); синтетическая пшеница Synthetic 6x (Синтетик 6x, Syn, Син6x), полученная от скрещивания *Triticum dicoccoides* x *Ae. tauschii* и три серии линий с замещением хромосом 4-й и 5-й гомеологических групп хромосом - Саратовская 29/Janetzki Probat (C29/JП); Chinese Spring/Synthetic 6x (CS/Syn); Cappelle-Despres/Безостая (CD/Без). Это ключевые серии замещенных линий Европейского общества генетиков злаков (European Cereal Genetics Co-operative), в разных аспектах изучаемые в различных странах Европы. Первая серия замещенных линий C29/JП создана в Институте цитологии и генетики в Новосибирске (Гайдаленок, 1990). Замещенные линии CS/Syn и CD/Без созданы в Англии (Law, Worland, 1994). Зерно было выращено в теплице ИЦиГ СО РАН в двух повторностях. Использовали для изучения влияния отдельных пар хромосом на активность семенной ЛОГ.

3) замещенные линии пшеницы Саратовская 29/Janetzki Probat (C29/JП) по всем гомеологическим группам хромосом, за исключением 1В, 6D и 7А, созданные в лаборатории хромосомной инженерии злаков ИЦиГ СО РАН (Гайдаленок, 1990). Зерно было выращено в полевых условиях вблизи Новосибирска. Набор ЗЛ состоит из 17 линий из 21 возможных, потому что позднее было обнаружено, что в 4 линиях замещение оказалось неподлинным (Salina et al. 2003). Использовали для изучения влияния отдельных пар хромосом на активность семенной ЛОГ и технологических параметров зерна.

4) Замещенные линии Chinese Spring/Synthetic 6x (CS/Syn6x) по всем хромосомам, полученные С. Law и Т. Worland в институте селекции растений (Кэмбридж, Великобритания). Набор ЗЛ был создан с использованием моносомных линий сорта Чайниз Спринг как материнский компонент последовательных беккроссов. Каждая линия несет 20 хромосомных пар сорта ЧС и одну хромосомную пару от Син6х. Сорт Чайниз Спринг происходит из Южного Китая (реципиент); синтетический гексаплоид Синтетик 6х, искусственно создан Е. МакФадденом и Е. Сирсом скрещиванием диких предков пшеницы *T. dicoccoides* (несущий геномы AABB) и *T. tauschii* (геном DD) (донор хромосом). Семенной материал был получен из ИЦиГ СО РАН. Активность ЛОГ и физиологические параметры изучали в семенах и листьях растений пшеницы при двух режимах водообеспечения - оптимальном и в условиях смоделированной почвенной засухи. ЗЛ CS/Syn6x использовали для изучения влияния засухи на хромосомный контроль активности семенной ЛОГ и технологические параметры зерна, а также для изучения активности нескольких форм листовой ЛОГ и физиологических параметров листьев пшеницы.

5) Популяция рекомбинантных инбредных линий ITMI (Triticeae Mapping Initiative), содержит более ста линий F8- F9, полученных от скрещивания мягкой пшеницы сорта Opata-85 и синтетической гексаплоидной пшеницы W7984. Synthetic W7984 получен в результате скрещивания образца *A. tauschii* CIGM86.940 с тетраплоидной пшеницей сорта Altar-84 (Nelson et al., 1995). В нашей работе были использованы родительские сорта и 63 случайно отобранные линии этой популяции. Зерновой материал был выращен в Институте генетики культурных растений (г. Гатерслебен, Германия) в течение двух полевых вегетаций (2000 и 2003 годы), которые резко различались условиями выращивания. В 2000 году зерно получено при озимом посеве при благоприятных погодных условиях в течение всего сезона. В 2003 году был яровой посев, а период налива зерна отличался жарой и засухой. Использовали для картирования ЛКП активности семенной ЛОГ и параметров качества клейковины.

6) Набор интрогрессированных рекомбинантных линий ЧС/Син6х по хромосомам 2D, 4D, 5D и 7D, созданных Е. Г. Песцовой и А. Бернером (IPK, Институт генетики растений и изучения культурных растений им. Лейбница, Германия, Гатерслебен). Каждая линия на генетическом фоне сорта-реципиента Чайниз Спринг представляет определенный сегмент соответствующей хромосомы генома *Ae. taushi* и генотипирована микросателлитными маркерами. Семенной материал был предоставлен А. Бёрнером (IPK, Гатерслебен, Германия). Растения выращивались на фитотроне СИФИБР СО РАН в течение двух вегетационных сезонов: в теплице в полуконтролируемых условиях (местоположение 1) и в

проходной климатической камере (CLF Plant Climatic GmbH, Вертинген, Германия) в строго контролируемых условиях (местоположение 2) при двух водных режимах, оптимальном и недостаточном. Использовали для изучения влияния водного дефицита на активность нескольких форм ЛОГ листьев и физиологические параметры, для изучения влияния аллельной интрогрессии на активность ЛОГ листьев, а также для картирования ЛКП, ассоциированных с адаптацией к засухе. Набор интрогрессированных рекомбинантных линий ЧС/Синбх по хромосоме 5D использовали для изучения генетического контроля растворимой и мембранной форм ЛОГ проростков в условиях осмотического стресса.

7) Набор рекомбинантных замещённых дигиплоидных линии пшеницы Саратовская 29/Янецкис Пробат по хромосоме 2A (РЗДЛ С29/ЯП2А), созданные в ИЦиГ СО РАН на основе соответствующей межсортовой ЗЛ. Для их молекулярного маркирования был использован микрочип Wheat 15K (Trait Genetics). 92 линии были исследованы в двух независимых экспериментах при двух режимах водообеспечения. Использовали для изучения активности растворимой ЛОГ листьев и физиологических параметров и их картирования на хромосоме 2A *T. aestivum*.

8) Сорт мягкой пшеницы Родина, *Ae. speltoides* и интрогрессивные линии *T. aestivum* x *Ae. speltoides*, из коллекции «Арсенал» (Лапочкина и др., 1996). Было использовано зерно, выращенное в климатических условиях Новосибирска в течение двух лет полевых вегетаций для изучения влияния аллельной интрогрессии на активность семенной ЛОГ.

9) Сорт мягкой пшеницы Саратовская 29 и линия 821. Линия 821 получена скрещиванием сорта мягкой пшеницы С29 с тетраплоидной пшеницей *T. timopheevii* ssp. *viticulosum*, последующим однократным беккроссированием на исходный сорт и отбором в потомстве цитологически стабильных, устойчивых к листовой ржавчине форм. Линия 821, обладает устойчивостью к бурой ржавчине и несет маркированные молекулярными маркерами интрогрессии. Рекомбинантными являются хромосомы 2A, 2B (интрогрессии в короткое и частично – длинное плечо) и 5A (интрогрессия в субтеломерную область длинного плеча). Линия 821 является частью коллекции интрогрессивных линий в генетической среде различных отечественных сортов пшеницы ИЦиГ СО РАН (Budashkina, Kalinina, 2001). Линию 821 мы использовали для изучения влияния аллельной интрогрессии *T. timopheevii* в геном *T. aestivum* на активность растворимой ЛОГ листьев, фотосинтез и газообмен.

Моделирование почвенной засухи. Растения выращивали в почвенном субстрате (гумус: песок: торфяная смесь, в соотношении 1:1:1) в контролируемых условиях: 16-часовой фотопериод, влажность воздуха – 60 % и температурный режим – 23°C/16°C

(день/ночь). Условия поддерживались проходной климатической камерой CLF Plant Master (CLF Plant Climatic GmbH, Вертинген, Германия), установленной на фитотроне СИФИБР СО РАН. Растения (по 10 - 15 зерен на образец) выращивали в сосудах Митчерлиха, заполненных почвенным субстратом (4 кг), при двух режимах водообеспечения – оптимальном и водodefицитном. Оптимальный режим соответствовал 60 %-му, а дефицитный – 30 %-му содержанию воды от полной почвенной влагоемкости, которую определяли, как описано в руководстве (Журбицкий, 1968). Водный режим поддерживали весовым методом, взвешивание проводили дважды в неделю. Дефицитный водный режим создавали начиная со стадии 3 листьев и поддерживали до окончания эксперимента на стадии стеблевания, когда проводился отбор растительного материала для анализов. В период кущения (или цветения) пшеницы, флаговые листья срезали, замораживали в жидком азоте и хранили в кельвинаторе при $t = -90^{\circ}\text{C}$. Данная схема водообеспечения приблизительно соответствует естественным условиям выращивания яровой пшеницы в Сибири, для которых характерна ранняя засуха. Все параметры изучали на стадии стеблевания.

Семена Синтетика 6х и рекомбинантных линий по хромосоме 5D подвергали низкотемпературной (4°C) влажной яровизации в течение месяца. Семена перед посевом стерилизовали обработкой 96% этанолом в течение 1-2 мин.

Проростки пшеницы были получены проращиванием семян в течение трех суток на воде (контрольный вариант) и в условии осмотического стресса на 12% растворе ПЭГ6000, имитирующем водный дефицит.

2.2. Получение ферментных экстрактов и определение содержания белка

Для получения экстракта семенной ЛОГ спелые или в стадии молочной спелости зерновки размалывали в лабораторном диспергаторе P/FG-0.3 (Россия) в течение 5 мин. Навески непросеянной муки (0.1г) экстрагировали 0.1 М трис-НСl буферным раствором с рН 7.5, содержащим 1 мМ ЭДТА в соотношении 1:10, в течение 30 мин. Гомогенат центрифугировали при 8000 g в течение 30 мин. Супернатант, содержащий растворимые изоформы ЛОГ использовали для определения содержания белка и активности растворимой ЛОГ семян.

Для получения ферментного экстракта семенной дисульфидредуктазы (ТПДО) 2 г муки грубого помола гомогенизировали с 0.1 трис-НСl буферным раствором с рН 7.5, содержащим 1 мМ ЭДТА в соотношении 1:3 в течение 20 мин. Гомогенат последовательно центрифугировали при 5000 g и 30000 g в течение 20 мин. Супернатант диализовали в течение 12 часов против исходного буфера.

Ферментные экстракты ЛОГ листьев получали из трех отдельных растений каждого поливного варианта растиранием в ступке в течение 25 мин замороженного в жидком азоте материала с тройным количеством 0.1 М трис-НСI буферного раствора, содержащего 1 мМ ЭДТА (рН 7.5).

Субклеточные фракции ЛОГ из листьев пшеницы ЗЛ ЧС/Синбх в стадии цветения были получены последовательным центрифугированием профильтрованного гомогената листьев при 9500 g в течение 20 мин, затем супернатанта при 105000 g в течение 80 мин. Для исследования брали ресуспендированный в том же буферном растворе осадок после центрифугирования при 105000 g (микросомальная фракция), супернатант после ультрацентрифугирования (растворимая фракция I) и ресуспендированный осадок после центрифугирования при 9500 g (растворимая фракция II).

Субклеточные фракции ЛОГ из листьев ИРЛ ЧС/Синбх в стадии кушения были получены центрифугированием фильтрата листьев при 1000 g в течение 20 мин для осаждения хлоропластов и ядер. Так как известно, что в ядрах растительных клеток ЛОГ не присутствует, было принято, что эта фракция содержит только хлоропластные ЛОГ. В дальнейшем из осадка были получены две белковые фракции, обогащенные растворимой и мембраносвязанной ЛОГ хлоропластов. Супернатант после осаждения хлоропластов и ядер центрифугировали при 105000 g в течение 120 мин для получения растворимой и микросомальной фракций листьев.

Были исследованы следующие белковые фракции:

1) растворимая фракция листьев, обогащенная цитозольными ЛОГ, листРЛОГ (супернатант после центрифугирования при 105000 g);

2) микросомальная фракция листьев, обогащенная мембраносвязанными формами ЛОГ, листМЛОГ (интенсивно растертый и ресуспендированный в том же буферном растворе осадок после центрифугирования при 105000 g);

3) фракция, обогащенная растворимой ЛОГ хлоропластов, хлРЛОГ (отцентрифугированный при 8000 g ресуспендированный осадок после центрифугирования при 1000 g);

4) фракция, обогащенная связанной с мембранами хлоропластов ЛОГ, хлМЛОГ (интенсивно растертый и ресуспендированный в том же буферном растворе осадок после центрифугирования при 105000 g растворимой фракции хлоропластов, получение которой описано в пункте 3).

Экстракты растворимой и мембраносвязанной ЛОГ проростков (прРЛОГ и прМЛОГ) получали аналогично листРЛОГ и листМЛОГ, исключив предварительное осаждение хлоропластов и ядер при 1000 g.

Грубые экстракты растворимых белков, содержащих ЛОГ, СОД (супероксиддисмутаза), ГР (глутатион редуктаза) и ДГАР (дигидроаскорбатредуктаза) из листьев пшеницы Саратовская 29, линии 821 и РЗДЛ С29/ЯП2А получали растиранием 250 мг замороженных в жидком азоте листьев в ступке в течение 25 мин с добавлением 2.5 мл Tris-HCl буфера pH 7.5, содержащего 2 mM ЭДТА (Реахим, Россия), 1 mM фенил метил сульфонил флуорида (Calbiochem, США), 0.1% (вес/объем) поливинилпирролидона (MP Biomedical, Inc., Германия) и 0.1 mM дитиотреитола (ICN Biomedicals Inc., USA). После 20 мин экстракции все образцы были центрифугированы в течение 40 мин при 25000 g (Sorvall Discovery 90SE, Япония).

Все операции по получению ферментных экстрактов проводили в трех биологических повторностях при температуре 4°C.

Определение содержания белка. Содержание белка в экстрактах муки определяли по методу Лоури (Lowry et al., 1951). К 0.4 мл ферментного экстракта белка добавляли 2 мл свежеприготовленного раствора, содержащего 2% Na₂CO₃, 0.01% CuSO₄·6H₂O и 0.02% KNaC₄H₄O₆·4H₂O. Смесь энергично встряхивали, выдерживали в течение 10 мин при комнатной температуре и добавляли 0.2 мл стандартного реактива Фолина. Интенсивность окраски раствора измеряли через 40 мин на спектрофотометре СФ-26 (Россия) при длине волны 750 нм.

Содержание концентрации белка в листьях определяли по методу Брэдфорд (Bradford, 1976) В планшет Citotest (производство Китай) раскапывали 10 мкл экстракта, добавляли 90 мкл воды и 90 мкл раствора Брэдфорд, Измерения проводили на микропланшетном ридере Infinite M200 PRO (Tecan Group Ltd, Маннедорф, Швейцария) при длине волны 595 нм. Содержание белка рассчитывали по калибровочной кривой, построенной по БСА (Sigma-Aldrich, Germany) в качестве стандарта.

2.3. Определение активности ферментов

Определение активности ЛОГ. Активность ЛОГ определяли по модифицированной методике Zimmerman и Vick, (1970), измеряя скорость образования пероксидов жирных кислот. Субстратом служила эмульсия линолевой кислоты в этаноле (1:1), растворенная в 0.1 М трис-HCl буферном растворе, pH 7.5. Концентрация ЛК в реакционной смеси 56.7 мкМ/мл. За единицу липоксигеназной активности принимали изменение оптической плотности на 0.01 за 1 мин в сравнении с контрольным вариантом опыта, не содержащим

ферментного экстракта. Удельную активность выражали в единицах активности (Е) на мг белка.

Активность семенной ЛОГ определяли на спектрофотометрах СФ-26 (Россия) и Hitachi U-1100 (Япония) при длине волны 234 нм. К трем мл растворенного субстрата вносили 0.05 мл экстракта ЛОГ и измеряли поглощение образующихся конъюгированных пероксидов.

Активность ЛОГ проростков и листьев определяли спектрофотометрически на микропланшетном ридере Infinite M200 PRO (Tecan Group Ltd, Маннедорф, Швейцария) при 234 нм в 3 биологических и 4-6 аналитических повторностях, используя УФ-прозрачные микропланшеты (Greiner Bio-One GmbH, Фриккенхаузен, Германия). Реакционная среда объемом 200 мкл содержала 5 мкл ферментного экстракта с известным содержанием белка, которое определяли по Брэдфорд (1976) с использованием бычьего сывороточного альбумина (Sigma-Aldrich, Германия) в качестве стандарта.

Определение активности ТПО, СОД, ДГАР и ГР. Активность ТПО семян определяли на спектрофотометре СФ-26 (Россия) по методу Minoda et. al. (1973). Активность ферментов СОД, ДГАР и ГР в листьях определяли на микропланшетном ридере Infinite M200 PRO (Tecan Group Ltd, Маннедорф, Швейцария) в 3 биологических и 3 аналитических повторностях с использованием УФ-прозрачных микропланшет (Greiner Bio-One GmbH, Фриккенхаузен, Германия). Реакционная среда объемом 200 мкл содержала 10 мкл ферментного экстракта с известным содержанием белка.

Общую активность СОД (КФ 1.15.1.1) определяли по способности фермента ингибировать фотохимическое восстановление нитросинего тетразолия (NBT) по известной методике (Giannopolitis, Ries, 1977) с некоторыми модификациями (Полеская и др., 2004). Реакционная смесь (200 мкл) содержала 50 мМ натрий-фосфатного буфера (рН 7.8), 13 мМ метионина (Reanal Private Ltd., Будапешт, Венгрия), 2 мкМ рибофлавина (Reanal Private Ltd., Будапешт, Венгрия), 63 мкМ NBT (Sigma-Aldrich, США), 0,1 мкМ этилендиаминтетрауксусной кислоты и 10 мкл ферментного экстракта. За единицу активности СОД принимали количество фермента, способного на 50 % подавить реакцию восстановления NBT.

Активность ДГАР (КФ 1.8.5.1) определяли по увеличению A_{265} в реакционной среде, содержащей 50 мМ натрий-фосфатный буфер (рН 7.0), 0.2 мМ дегидроаскорбат (Sigma-Aldrich, США) и 2.5 мМ восстановленный глутатион (Reanal Private Ltd., Будапешт, Венгрия) ($E = 14 \text{ мМ}^{-1}\text{см}^{-1}$) (Baier et al., 2000).

Активность ГР (КФ 1.6.4.2) определяли определяли путем окисления NADPH при 340 нм в течение 1 мин (коэффициент экстинкции $6.2 \text{ мМ}^{-1} \text{ см}^{-1}$) в 50 мМ калий-фосфатном

буфере с pH 7.8, содержащем 0.10 мМ NADPH (Sigma Aldrich, США) и 1 мМ окисленного глутатиона (Reanal Private Ltd., Будапешт, Венгрия) (de Lamotte 2000). Коррекция для фонового поглощения была сделана в реакции без NADPH при 340 нм. Активность ферментов представлена в мкМ субстрата на мг белка в минуту при 25°C.

2.4. Электрофорез и иммуноблоттинг изоферментов липоксигеназы

Нативный электрофорез. Нативные белки экстрактов пшеницы анализировали ПААГ-электрофорезом по Дэвису (Davis, 1964). Для выявления зон локализации молекулярных форм ЛОГ в пластинках ПААГ использовали метод Хейдека (Heydeck, Schewe, 1985), основанный на образовании йод-крахмального комплекса в присутствии йодистого калия и гидроперекисей линолевой кислоты. С этой целью перед полимеризацией в ПААГ вносили растворимый крахмал до конечной концентрации 1%. По окончании электрофореза пластинки геля инкубировали в растворе, содержащем 0.5% линолевой кислоты в 0.1 М трис-НСI-буферном растворе (pH 6.8). Затем тщательно отмытые дистиллированной водой гели помещали в проявляющую смесь, состоящую из 100 мл 7%-ной уксусной кислоты и 5 мл свежеприготовленного 0.1 М раствора йодистого калия. Появление коричневых полос на желтом фоне геля свидетельствовало о наличии изоформ ЛОГ. Гели сканировали и использовали для расчета интенсивности окраски и относительной электрофоретической подвижности (ОЭП) молекулярных форм фермента. Во всех опытах применяли реактивы отечественного производства и фирмы Sigma Aldrich, (США).

Электрофорез в ПААГ с ДДС-Na. Восстановленные белки ферментных экстрактов анализировали в щелочной буферной системе по Лэммли (Laemmli, 1970) в 12.5% ПААГ. Верхний электродный буфер содержал 0.025 М Триса, 0.192 М глицина и 0.1% ДДС-Na (pH 8.3). Нижний электродный буфер имел аналогичный состав. Разделяющий гель полимеризовали в 0.375 М Трис-НСI буфере (pH 8.8), содержащем 0.1% ДДС-Na, а концентрирующий гель - в 0.125 М Трис-НСI буфере (pH 6.8), содержащем 0.1% ДДС-Na. Анализируемые белки растворяли в 0.0625 М Трис-НСI буфере (pH 6.8), содержащем 2% ДДС-Na, 10% глицерина, 5% 2-меркаптоэтанола и 0.002% бромфенолового синего. Первые 30 мин сила тока составляла 10 мА, а в дальнейшем - 50 мА. Электрофорез проводили в течение 8 ч. После окончания электрофореза гели окрашивали в водном растворе, содержащем 0.1% Кумасси R-250 (Sigma, США), 25% этанола и 10% ТХУ. Для обесцвечивания фона пластинки геля помещали в раствор 7% уксусной кислоты.

Двумерный электрофорез. Нативный гель-электрофорез: В первом (1D) направлении проводили разделение растворимых белков в нативных условиях с помощью бесцветного нативного электрофореза в слабощелочных условиях с использованием трис-глицинового

буфера: 0.025 М Триса , 0,192 М глицина (рН 8.3) (Шуколюков, 2011). Нижний электродный буфер имел такой же состав. Разделяющий гель (5–15%) полимеризовали в 0.375 М Трис-НСІ буфере (рН 8.8), для создания градиента, 15% ПААГ содержал дополнительно 20% глицерина. Концентрирующий 4% ПААГ полимеризовали в 0.065 М Трис-НСІ буфере (рН 6.8). Экстракт с анализируемыми белками наносили в слоты на концентрирующий гель в количестве 50-60 мкг белка. Первые 30 минут затем при постоянной силе тока 10 мА, затем при постоянной силе тока 40 мА в течение пяти часов.

SDS-PAGE: Во втором направлении проводили идентификацию индивидуальных белков в составе исследуемых экстрактов. Для этого после нативного электрофореза фрагмент геля, содержащего разделенные белки, инкубировали в денатурирующем буфере, содержащем 0.25 мМ Трис-НСІ (рН 6.8), 8% ДДС, 40% глицерин, 20% 2- меркаптоэтанол и 1 мМ ЭДТА в течение 30 мин при комнатной температуре. Затем денатурированный гель помещали на 5% концентрирующий гель SDS-PAGE и закрепляли, используя раствор 0.5% агарозы в однократном буфере для SDS-PAGE с добавлением 0.02% бромфенолового синего. Первые 30 мин, сила тока составляла 10 мА, а в дальнейшем - 50 мА (Schägger et al., 1994). Электрофорез проводили в течение 8 ч. После окончания электрофореза гель вынимали из аппарата, затем окрашивали или переносили белки на нитроцеллюлозную мембрану.

Гели окрашивали в водном растворе, содержащем 0,1% Кумасси R-250 (Sigma, США), 25% этанола и 10% ТХУ. Для обесцвечивания фона пластинки геля отмывали и хранили в растворе, содержащем 7% уксусную кислоту. Для нативных гелей также использовали окрашивание раствором коллоидного Кумасси, состоящего из 17% сульфата аммония, 1.8% фосфорной кислоты, 0.12% Кумасси G-250, 35% метанола. После окрашивания Кумасси G-250, гели отмывали в растворе 1%-ной уксусной кислоты.

Иммуноблоттинг. При Вестерн-блоттинге (Timmons, 1990) перенос белков из полиакриламидного геля на нитроцеллюлозную мембрану проводили в камере для блоттинга Criterion Blotter (BioRad) в охлажденном буфере для переноса при рН = 9.2 (48 мМ Трис, 39 мМ глицин, 10% метанола). Перенос проводили при напряжении 150 V в течение 5 часов.

Эффективность переноса определяли при помощи красителя Ponceau S (0.5% Ponceau S (Sigma, США) в 0.1% уксусной кислоте). Мембраны блокировали в 5%-ном растворе обезжиренного сухого молока, приготовленном на буфере TBS, рН 7.5 (20 мМ Трис-НСІ, 0.5 М NaCl).

Растворы первичных и вторичных антител готовили на буфере TTBS (20 мМ Трис, 0.5 М NaCl, 0.05% Tween-20) содержащем 5% молока и 0.02% азида натрия. Заблокированную мембрану инкубировали в растворе первичных антител 1.5–2 часа при постоянном

помешивании. После инкубации с первичными антителами раствор сливали и отмывали мембрану от непрореагированных антител отмывочным буфером TTBS (pH 7.5) 2 раза по 10 минут. Отмытую мембрану помещали в раствор вторичных антител, конъюгированных с щелочной фосфатазой (Sigma, США) на 1 час при постоянном помешивании. Затем мембрану вновь отмывали в буфере TTBS 2 раза по 10 минут и помещали в буфер pH=9.5 (100 mM Трис, 100 mM NaCl, 5 mM MgCl₂). Для визуализации белковых полос готовили раствор, состоящий из Трис-HCl буфера с pH 9.5, 0.17 мг/мл 5-бromo-4-хлоро-3-индолил фосфата (BCIP) и 0.33 мг/мл нитросинего тетразолия хлорида (NBT). В приготовленном красителе инкубировали мембрану при комнатной температуре в течение 2-15 минут в зависимости от степени развития окраски. Далее мембрану высушивали, сканировали и проводили анализ данных.

2.5. Экстракция и определение концентрации пигментов

В листьях образцов пшеницы определяли содержание хлорофиллов А и В ($X_{Л_а}$, $X_{Л_в}$) и их сумму ($X_{Л_{а+в}}$) в мг; содержание каротиноидов (Кар) в мг; отношение $X_{Л_{а+в}}/Кар$. Навески фиксированного а жидком азоте растительного материала (50 мг) тщательно растирали в фарфоровой ступке с 3 мл 80%-ого ацетона (1мл) и 10 мг CaCO₃ и затем центрифугировали при 2000 g 10 мин. Аликвота 3 мл супернатанта была использована для измерения оптической плотности при 440.5, 648 and 664 нм на спектрофотометре Hitachi U-1100 (Hitachi Ltd., Токио, Япония). Содержание $X_{Л_а}$, $X_{Л_в}$, $X_{Л_{а+в}}$ и Кар вычисляли согласно формуле Wettstein (1957), а именно $X_{Л_а} = 9.78 A_{662} - 0.990 A_{644}$, $X_{Л_в} = 21.43A_{644} - 4.65 A_{662}$, $X_{Л_{а+в}} = 5.134A_{662} + 20.44A_{644}$, $Кар = 4.695A_{440.5} - 0.268 (X_{Л_{а+в}})$, где, $A_{440.5}$ = поглощение при 440.5 nm, A_{644} = поглощение при 644 nm, A_{662} = поглощение при 662nm. Концентрация пигментов (мг/г сырого веса) представлена как среднее трех растений одного генотипа, образец каждого растения выполнен в трех повторностях.

2.6. Определение биомассы побега, параметров газообмена, фотосинтеза и фенологии

Биомассу главного побега в г определяли не менее чем у восьми растений. Показатели газообмена и фотосинтеза изучали на флаговых листьях растений с помощью портативной системы GFS-3000 (HeinzWalzGmbH, Эффельтрих, Германия) для изучения газообмена и флуоресценции хлорофилла. Измеряли следующие показатели: скорость транспирации (СТ); устьичную проводимость (УП); скорость ассимиляции CO₂ или нетто-фотосинтез (СА); эффективность использования воды (ЭИВ) как отношение СА/СТ; F_0 – фоновая флуоресценция хлорофилла в темноте, измеряемая при низкой интенсивности

измерительного света, для сохранения открытым реакционных центров ФС II; F_v/F_m – максимальная (потенциальная) квантовая эффективность ФС II; ЭФКВ(II) – эффективный фотохимический квантовый выход ФС II; параметры, характеризующие скорость электронного транспорта (СЭТ) в ФС II: СЭТ при $160 \mu\text{mol photons}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ (СЭТ₁₆₀); начальный наклон световой кривой, связанный с максимальным выходом электронного транспорта ФС II в условиях ограниченного света (α); максимальную скорость электронного транспорта (СЭТ_{max}); интенсивность света при котором линии α и СЭТ пересекаются, выражающая начало насыщения ФАР (Lk); нефотохимическое тушение флуоресценции (NPQ). Все параметры измеряли в листьях шести растений каждого генотипа и при каждом режиме водообеспечения. У каждого растения все параметры измеряли не менее 8 раз.

Кроме того были измерены фенологические параметры: Число дней до кущения (ДнК); Число дней до цветения (ДнЦ); Число дней до восковой спелости (ДнВС).

2.7. Оценка технологических свойств зерна и муки

Анализ технологических показателей проводили по методике Государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур (1988).

Определение параметров биометрии и зерновой продуктивности. Были определены параметры: Длина стебля (ДС) в см; Длина колосоножки (ДлК) в см; Длина колоса (ДК) в см; Количество колосков в главном колосе (ККК); Масса главного колоса (МК) в г; Количество зерен в главном колосе (КЗК); масса зерна в главном колосе (МЗК) в г; Озернённость главного колоса (Оз); Число зерен вторичных колосьев (ЧЗВ); Вес зерна вторичных колосьев (ВЗВ) в г; Число зёрен с растения (ЧЗР); Вес зерна с растения (ВЗР) в г; Масса 1000 зерен (М1000з) в г; Крупность зерна (КЗ) как отношение МЗК/ КЗК.

Определение мукомольных параметров и стекловидности зерна. Для оценки твердозерности использовали мукомольные параметры Удельную поверхность частиц муки (УПЧМ) и Размер частиц муки (РЧ), первый из которых обратно пропорционально, а второй прямо пропорционально связаны с твердостью зерна. Мукомольные параметры определяли на приборе ПСХ-4, определяющем удельную поверхность порошкообразных материалов, в том числе и муки, основанном на уравнении Козени-Кармана, которое устанавливает зависимость ее величины от скорости фильтрации воздуха через слой дисперсного материала. Удельную поверхность частиц муки (УПЧМ) определяли по формуле:

$$УПЧМ = K \frac{M \sqrt{T}}{P}$$

где K – постоянная прибора; M – величина, определяемая в зависимости от высоты слоя и температуры воздуха; T – время прохождения столба жидкости в манометре в секундах; P – масса навески в граммах.

Размер частиц (РЧ) вычисляли по формуле:

$$PЧ = \frac{60000}{\rho УПМЧ}$$

где ρ – плотность муки в г/см³ (для муки 70% выхода – 1.41, шрота – 1.50 г/см³); УПМЧ – удельная поверхность частиц муки в г/см³.

Стекловидность определяли визуально и выражали как сумму стекловидных и половины частично стекловидных зёрен в процентах. Для анализа использовали 100 семян.

Оценка качества клейковины и теста. Клейковину отмывали вручную, и содержание сырой клейковины выражали в % к первоначальному весу муки. Физические свойства теста изучали с помощью альвеографа Шопена с 50-граммовой месилкой по стандартной методике. Определяли Силу муки - удельную работу на деформацию теста (W) в единицах альвеографа (е.а), Упругость (P) в мм и Растяжимость (L) в мм, а также отношение показателей (P/L). Фаринограф Брабендера использовали для изучения смесительных свойств теста: водопоглотительной способности (ВПС) в %, Времени образования, устойчивости к замесу и Сопротивляемости теста (мин), Разжижения теста в единицах фаринографа, (е. ф.) и Валориметрической оценки в единицах валориметра (е. вал.).

Определение агрегирующей способности белков клейковины пшеницы. Скорость агрегации клейковинных белков (САБ) вычисляли по модифицированному методу Аракавы и Юнезавы (Arakawa, Yonezawa 1975). В слабых растворах уксусной кислоты при добавлении 0.1M трис-HCl-буфера происходит агрегация клейковинных белков, проявляющаяся в помутнении раствора, интенсивность которого мы измеряли на спектрофотометре Hitachi U-1100 (Hitachi Ltd., Токио, Япония) при длине волны 350 нм.

Клейковину разных образцов муки, отмывают до исчезновения реакции на крахмал (йодная проба), помещали в центрифужные пробирки и заливали 1.5 мл 0.01н. СН₃СООН. Пробирки плотно закрывали пробкой и помещали на шейкер. Экстракцию уксуснорастворимых белков проводили в течение 20 ч при температуре 4°C. После 20-часовой экстракции проводили центрифугирование (5000 об/мин) в течение 30 мин. В надосадочной жидкости содержались белки, растворимые в 0.01н. СН₃СООН. Содержание белка в образцах определяли по Брэдфорд. Затем подбирали концентрацию белка, равную ~0.1 мг/мл. К 1мл полученного раствора белка добавляли 1мл трис-HCl-буфера.

Через каждые 15 секунд в течение 2 мин при длине волны 350 нм проводили замеры оптической плотности. По изменению мутности вычисляли константу скорости агрегации K по уравнению: $K=r/C^4$: где r – постоянная; C – концентрация белка.

Определение хлебопекарных свойств пшеницы при добавлении соевой муки. Для замеса теста использовали 50 г муки низкого качества, 36.5 мл воды, 2 г дрожжей, 0.5 г соли. В качестве источника липоксигеназы использовали свежеприготовленную соевую муку с высоким содержанием фермента. В качестве дополнительного субстрата липоксигеназы использовали растительное масло, содержащее полиненасыщенные жирные кислоты. Соевую муку и растительное масло добавляли к пшеничной муке в соотношении 1:50. Для насыщения теста кислородом применяли интенсивное перемешивание. Для гомогенизации использовали универсальный лабораторный гомогенизатор «Aid type 309». Соевую муку (1 г) и растительное масло (1 мл) гомогенизировали с 25 мл воды в течение 1 мин при 150 об/мин, вносили 15 г пшеничной муки и гомогенизировали еще 4 мин. Затем вносили 2 г дрожжей в 5 мл воды с температурой 32°C, смесь выдерживали 15 мин, добавляли 0.5 г соли и гомогенизировали еще 1 мин. После этого в полученную массу добавляли еще 35 г пшеничной муки и замешивали тесто.

Для брожения и расстойки тесто помещали в термостат с температурой 32°C. Время брожения 120 мин. Перебивки теста производили вручную каждые 60 мин брожения. Затем тесто делили на 2 равные части, оставляли на 120 мин для расстойки. Пробные выпечки микрохлебцев делали в термостате при температуре 230°C в течение 20 мин.

По стандартным методам (Василенко, Комаров, 1987) определяли высоту (H) и диаметр (D) теста в мм и отношение H/D на стадиях брожения и расстойки, а также у готовых хлебцев, U хлебцев определяли вес, g и оценку в баллах, параметры объема хлеба а также проводили органолептическую оценку по 5-бальной системе и общую хлебопекарную оценку.

2.8. Картирование локусов количественных признаков и выявление кандидатных генов

Для выявления целевых ЛКП у популяции ITMI и интрогрессивных линий ЧС (Син 6х) по геному D был использован программный пакет QGENE (Nelson, 1997), который позволил выявить локусы, ассоциированные с изучаемыми признаками, проанализировать их ко-локализацию и оценить степень влияния каждого ЛКП на фенотипическое разнообразие признаков.

Для молекулярного маркирования РЗДЛ С29(ЯП 2А) был использован микрочип Wheat 15K (Trait Genetics) (Wang et al. 2014). Это позволило создать карту хромосомы 2А

высокой плотности, которая была использована ее для последующей интеграции в нее фенотипических данных. Анализ генетической структуры популяции был проведен с помощью программы STRUCTURE 2.3.4. Согласно результатам генотипирования с помощью 152 SNP маркеров, картированных на хромосоме 2A и 3B, популяция была поделена на 9 субкластеров. Результаты по генетической структуре были использованы для поиска ассоциаций маркер-признак. Ассоциативное картирование проводилось с помощью программы TASSEL 3.1.

При выявлении ассоциаций фенотипических признаков с молекулярными маркерами учитывали ЛКП с десятичным логарифмом вероятности (LOD) ≥ 1.9 (соответствие вероятностям $P \leq 0,01$). Для сравнительного анализа принимали во внимание ЛКП с LOD 1.6 и 1.7 ($P \leq 0,02$).

Для поиска генов-кандидатов в выявленных областях концентрации ЛКП на хромосомах 2A и 2D была использована сборка пшеницы *iwgsc_refseqv1.0* (<http://wheat-urgi.versailles.inra.fr>). Поиск координат маркеров на хромосоме 2A пшеницы производился при помощи программы BLASTn из пакета BLAST+ (Camacho et al., 2009). Согласно аннотации GFF были извлечены все последовательности генов и их белков, находящиеся между маркерами. Далее была проведена функциональная аннотация генов по гомологии. Для этого при помощи алгоритма BLASTp были установлены соответствия между найденными на целевых участках хромосомы 2A генами пшеницы и *A. thaliana*, *Zea mays*, *Oryza sativa* ssp. *japonica*. Извлеченные гены были проанализированы с использованием ассоциированных терминов генных онтологий (GO). Термины GO, ассоциированные с генами, гомологичными генам пшеницы, были извлечены из базы TAIR. Далее для каждого гена из списка генов-кандидатов был описан доменный состав. Описание доменов производилось при помощи программы Hmmssearch из пакета HMMER v.3 (<http://hmmerr.org/>) и описанных скрытых марковских цепей (Hidden Markov Model), взятых из базы данных pfam (<http://pfam.xfam.org>) с порогом $e\text{-value} = 10^{-4}$.

2.9. Статистическая обработка результатов

Эксперименты проводили в 3-кратных биологических и 3–4–6–8–кратных аналитических повторностях в 2–3 независимых экспериментах. Для обработки полученных результатов применяли программу Microsoft Excel 2000. Рассчитывали выборочные средние, средние ошибки выборочной средней ($S_{\bar{x}}$) или стандартные отклонения. Сопряженность активности липоксигеназы с физиологическими и технологическими параметрами пшеницы и взаимосвязь всех параметров оценивали по коэффициенту корреляции Пирсона. Значимость коэффициентов корреляции и различий средних значений признаков между

родительскими генотипами и линиями оценивали по t-критерию Стьюдента. Вклад генотипа и среды в выраженность признака проводили с помощью однофакторного дисперсионного анализа.

Индекс устойчивости (ИУ%) каждого генотипа по каждому из изученных параметров определяли в % по формуле $ИУ\% = \frac{СрВД}{СрНВО} \cdot 100$, где СрВД – среднее значение параметра данного генотипа в условиях водного дефицита, СрНВО – среднее значение параметра данного генотипа в условиях нормального водообеспечения.

Анализ методом главных компонент (ГлК), выполненный в программе Statistica использовали для выявления вклада изученных признаков в разнообразие среди ЗРДЛ в контрастных условиях полива.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ

3.1. Липоксигеназы семян пшеницы

3.1.1. Молекулярные формы липоксигеназы семян пшеницы

Во фракции растворимых белков зрелых семян пшеницы всех изученных нами сортов и линий обнаруживалось по три молекулярные формы ЛОГ, отличающихся величиной поверхностного заряда. На рисунке 17 представлена типичная картина молекулярных форм растворимой ЛОГ семян на примере исходных сортов и нескольких линий пшеницы с межсортовым замещением отдельных пар хромосом.

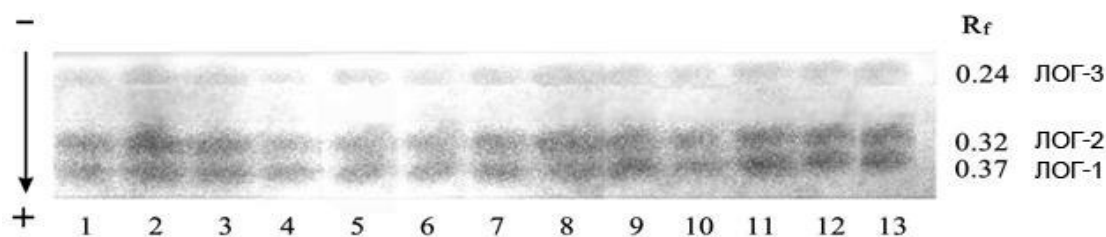


Рис. 17. Молекулярные формы липоксигеназы исходных сортов пшеницы Саратовская 29 (C29, реципиент), Janetzki Probat (JP, донор) и линий с межсортовым замещением отдельных пар хромосом.

1– C29, 2– JP, 3– C29(JP 1A), 4 - C29(JP 1D), 5- C29(JP 2A), 6- C29(JP 2B), 7- C29(JP 2D), 8- C29(JP 3A), 9 - C29(JP 3B), 10 -C29(JP 3D), 11- C29(JP 4A), 12- C29(JP 4B), 13- C29(JP 4D).

Методом нативного ПААГ-электрофореза было показано наличие трех молекулярных форм ЛОГ с ОЭП 0.37, 0.32 и 0.24, обозначенных как Lpx-1, Lpx-2 и Lpx-3 соответственно (рис. 17). По результатам гистохимического выявления непосредственно в пластинках ПААГ и денсиметрической оценки интенсивности окраски ферментных зон активность молекулярных форм Lpx-1 и Lpx-2 была одинаковой по величине, а активность изоформы Lpx-3 оказалась ниже и составляла 15-20% от общей активности фермента. Интенсивность окраски несколько различалась как у родителей, так и у замещенных линий, что находилось в соответствии с уровнем ферментативной активности генотипов (рис. 23).

3.1.2. Роль отдельных хромосом генома пшеницы в проявлении активности липоксигеназы семян

При изучении генетической регуляции активности семенной ЛОГ, участвующей в определении качества клейковины пшеницы, необходимым первоначальным шагом было выявление роли отдельных гомологичных хромосом в проявлении активности этого фермента. Наиболее адекватным генетическим материалом для таких исследований являются ЗЛ мягкой пшеницы, в которых пара хромосом сорта-реципиента замещена на гомологичную пару от сорта-донора.

3.1.2.1. Липоксигеназная активность в семенах пшеницы трех серий замещенных линий по хромосомам 4-й и 5-й гомеологических групп

Структурные гены ЛОГ, найденные электрофоретическим анализом с помощью анеуплоидов Сирса по сорту Chinese Spring, были обнаружены на хромосомах 4-й и 5-й гомеологических групп (Hart, Langstone, 1977). В нашем исследовании активность ЛОГ в течение вегетационного сезона 2004 года была изучена в трех сериях линий с замещением этих хромосом: Саратовская 29/Janetzki's Probat (C29/JP), Chinese Spring/Synthetic 6х (CS/Syn) и Cappelle-Despres/Безостая (CD/Без).

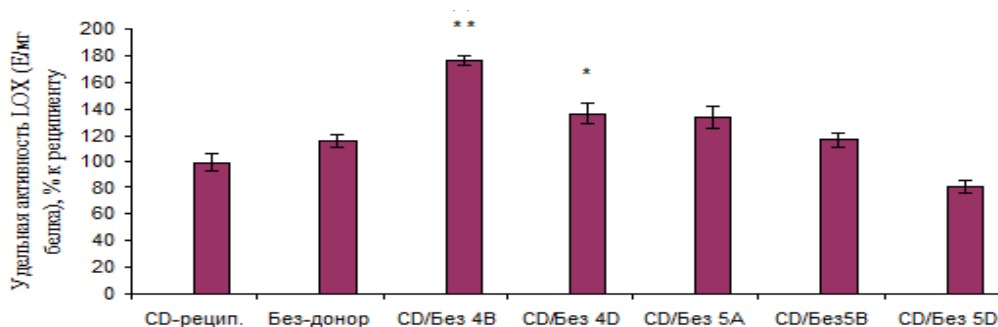


Рис. 18. Активность ЛОГ в линиях Cappelle-Despres/Безостая (CD/Без) с межсортовым замещением хромосом 4 и 5 гомеологических групп относительно сорта-реципиента.

На рис. 18-20 представлены средние значения двух биологических повторностей;

*, ** - достоверность различий с сортом-реципиентом на 5, 1 % уровнях значимости.

В первой серии ЗЛ родительские сорта достоверно не различались по удельной активности фермента, однако в линиях замещением с 4В и 4D хромосом удельная активность ЛОГ была достоверно выше, чем у реципиента на 76 и 36% соответственно. Вероятно, хромосомы родителей 4В и 4D несут более активные аллели фермента (рис. 18).

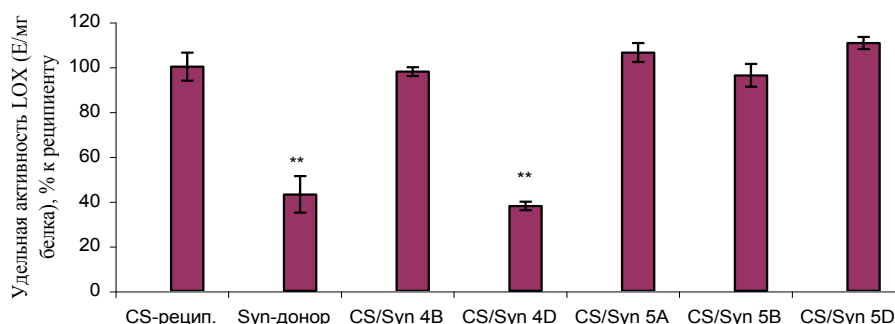


Рис. 19. Активность ЛОГ в линиях Chinese Spring/Synthetic 6х (CS/Syn) с межсортовым замещением хромосом 4-й и 5-й гомеологических групп (% к реципиенту).

Во второй серии сорт-донор Synthetic 6х (Syn, Син6х) показал только 43 % удельной активности реципиента Chinese Spring (CS, ЧС). Такого же уровня уменьшение удельной активности ЛОГ было найдено в замещенной линии CS/Syn 4D (рис. 19).

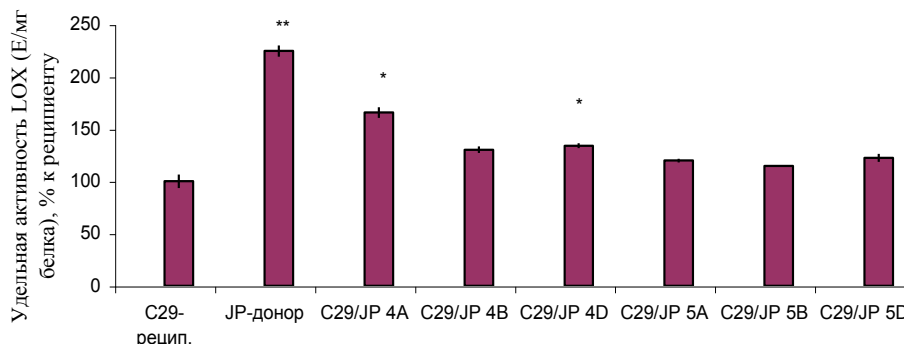


Рис. 20. Активность ЛОГ в линиях Саратовская 29/Janetzki Probat (C29/JP) с межсортовым замещением хромосом 4-й и 5-й гомеологических групп относительно сорта -реципиента.

В третьей серии сорт-донор Janetzki Probat (JP, ЯП) имел уровень удельной активности ЛОГ в 2 раза выше, чем реципиент C29. Только в линиях с замещением хромосом 4А и 4D этот параметр был достоверно выше по сравнению с реципиентом, на 66 и 34% соответственно (рис. 20).

Таким образом, исследование активности ЛОГ в зерновках трех разных серий замещенных линий по 4-й и 5-й гомеологическим группам хромосом, несущим структурные гены ЛОГ, показало несомненную роль в наследовании этого признака хромосом 4-й гомеологической группы. Замещение хромосом 5-ой гомеологической группы не приводило к изменению активности фермента.

По нашим данным средняя удельная активность ЛОГ в зерне сорта C29 в разные годы репродукции варьировала: 1999 г. – 101.2 ± 1.6 ; 2000 г. – 112.0 ± 5.9 ; 2004 г. – 93.5 ± 6.5 .

На рисунке 21 показаны данные по активности у сорта-донора хромосом и ЗЛ пшеницы C29/JP по хромосомам 4-й и 5-й гомеологических групп в разные годы репродукции относительно сорта – реципиента хромосом C29. Уровни активности ЛОГ у сорта-донора в разные годы были значительно выше C29. Активность ЛОГ у ЗЛ относительно реципиента также варьировала в разные годы. В течение всех трех лет вегетации только линия с замещением хромосомы 4А показала достоверное отличие от сорта-реципиента, а линии с замещением хромосом 5В и 5D не имели достоверных различий с реципиентом. В 1998 году наблюдался наиболее низкий уровень удельной активности ЛОГ. Понижение уровня активности фермента в 1998 году отмечалось не только у ЗЛ C29/JP, но также и у ЗЛ Дм/Н67 (рис. 25).

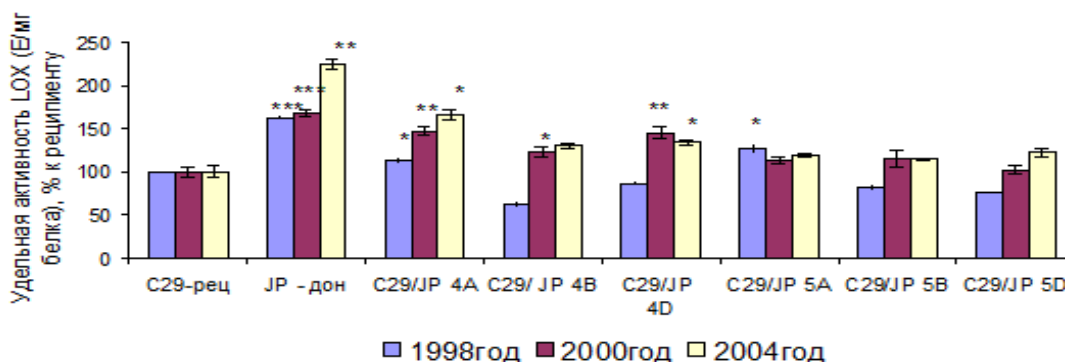


Рис. 21. Вариабельность активности ЛОГ у замещенных линий Саратовская 29/Janetzki's Probat (C29/JP) по хромосомам 4-й и 5-й гомеологических групп (% к реципиенту) в зависимости от года репродукции.

*, **, *** – достоверность различий с сортом-реципиентом: $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$, соответственно.

Достоверное отличие уровня активности ЛОГ от сорта-реципиента в линии C29(JP 5A) в 1998 году находится в противоречии с вышеизложенными данными о непричастности хромосом 5-й гомеологической группы к генетическому контролю растворимых изоформ ЛОГ семян пшеницы. Однако это противоречие можно объяснить тем, что в этом году наблюдалось очень низкое содержание белка в ЗЛ C29(JP 5A), значительно ниже, чем в других линиях (Пермяков, 2004), что соответственно увеличило значение удельной активности в этой линии. Расчет по данным единиц активности ЛОГ, устраняющий влияние содержания белка, достоверного отличия от реципиента в ЗЛ C29(JP 5A) не обнаружил (рис. 22).

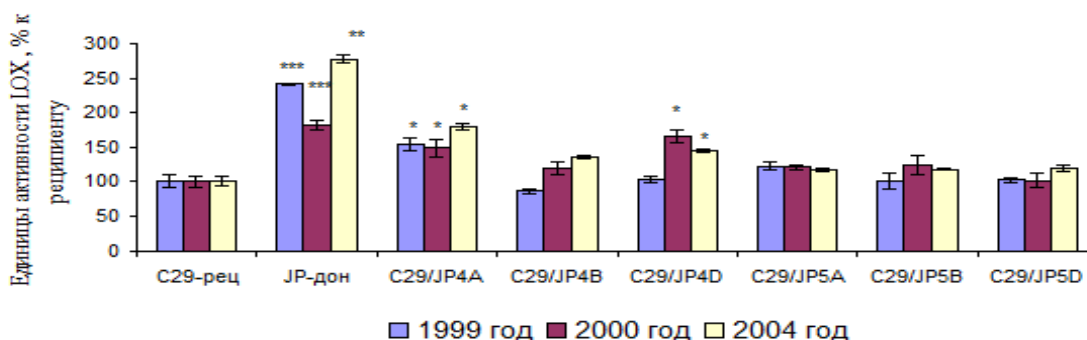


Рис. 22. Единицы активности ЛОГ в замещенных линиях Саратовская 29 / Janetzki's Probat (C29/JP) по хромосомам 4-й и 5-й гомеологических групп в % к реципиенту в течение трех лет репродукции.

*, **, *** - достоверность различий с реципиентом: $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$, соответственно

Дисперсионный анализ по результатам изучения активности ЛОГ в течение трех лет вегетации в ЗЛ C29(JP) по хромосомам 4-й и 5-й гомеологических групп позволил

определить долю генетической изменчивости в общей вариабельности признака (коэффициент наследуемости, h^2), которая составила 72 %.

3.1.2.2. Липоксигеназная активность в семенах замещенных линий пшеницы Саратовская 29/Янецкис Пробат по разным гомеологическим группам хромосом

На рисунке 23 представлены результаты изучения липоксигеназной активности в линиях Саратовская 29/Янецкис Пробат с межсортовым замещением по всем гомеологическим группам хромосом, за исключением 1В, 6D и 7А.

Сорт-донор Янецкис Пробат (JP) превышал реципиент С29 на 60% по активности ЛОГ. Во всех линиях, кроме линий с замещением хромосомы 3D и хромосом 5-й гомеологической группы, этот параметр оказался достоверно выше, чем у реципиента. Наиболее высокие значения активности ЛОГ, характерные для JP, отмечались у ЗЛ по хромосомам 1А, 1D, 2А, 3В, 6В, 7В и составляли по отношению к реципиенту 150-190 % , низкие – у линий по хромосомам 3D, 4В, 5А, 5В и 5D (100-120 %). Промежуточные значения (130-140%) были у линий по хромосомам 2В, 2D, 3А, 4А, 4D, 6А, 6В и 7D, замещение которых, хотя и приводило к достоверному увеличению активности фермента в сравнении с сортом-реципиентом С29, однако уровень ее не достигал уровня активности у сорта-донора JP.

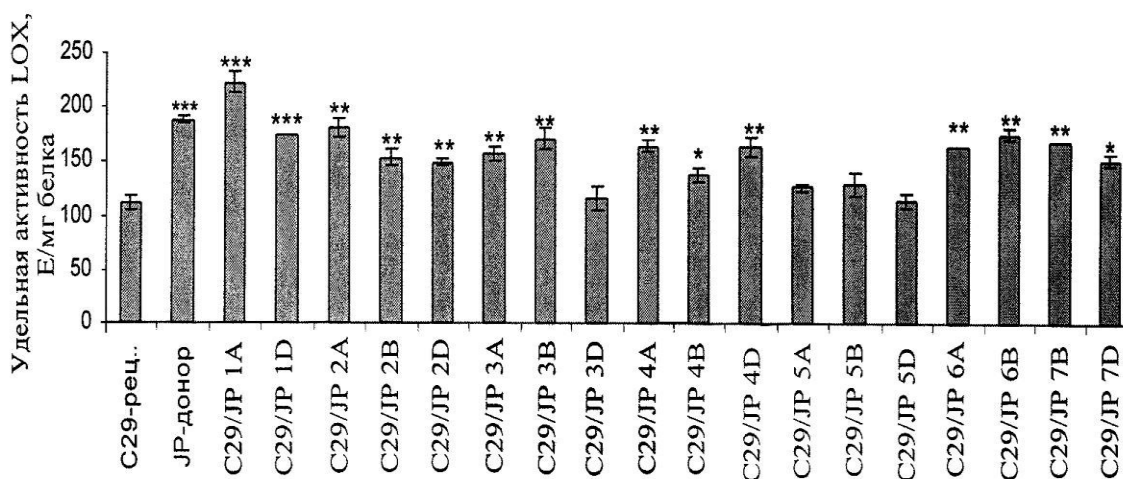


Рис. 23. Активность растворимой ЛОГ семян в замещенных линиях Саратовская 29 / Janetzki Probat (C29/JP) по хромосомам различных гомеологических групп (2000 г.).

*, **, *** - достоверность различий с реципиентом: $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$.

Наряду с исследованием активности ЛОГ в этих линиях также изучали сопряженность ее активности с основными признаками зерновой продуктивности и технологическими свойствами зерна и муки. Сопряженность удельной активности ЛОГ с параметрами зерновой продуктивности в родительских сортах С29 и JP и при межсортовом замещении отдельных пар хромосом сорта-реципиента на соответствующие пары хромосом сорта-донора показана

на рисунке 24. Оценка степени сопряженности активности ЛОГ с признаками по коэффициенту детерминации (d) показала, что фермент оказывал влияние на силу муки ($d = 34.6\%$), содержание сырой клейковины (ССК) ($d = 18.1\%$), растяжимость теста ($d = 12.8\%$), массу зерна в колосе (МЗК) ($d = 12.7\%$).

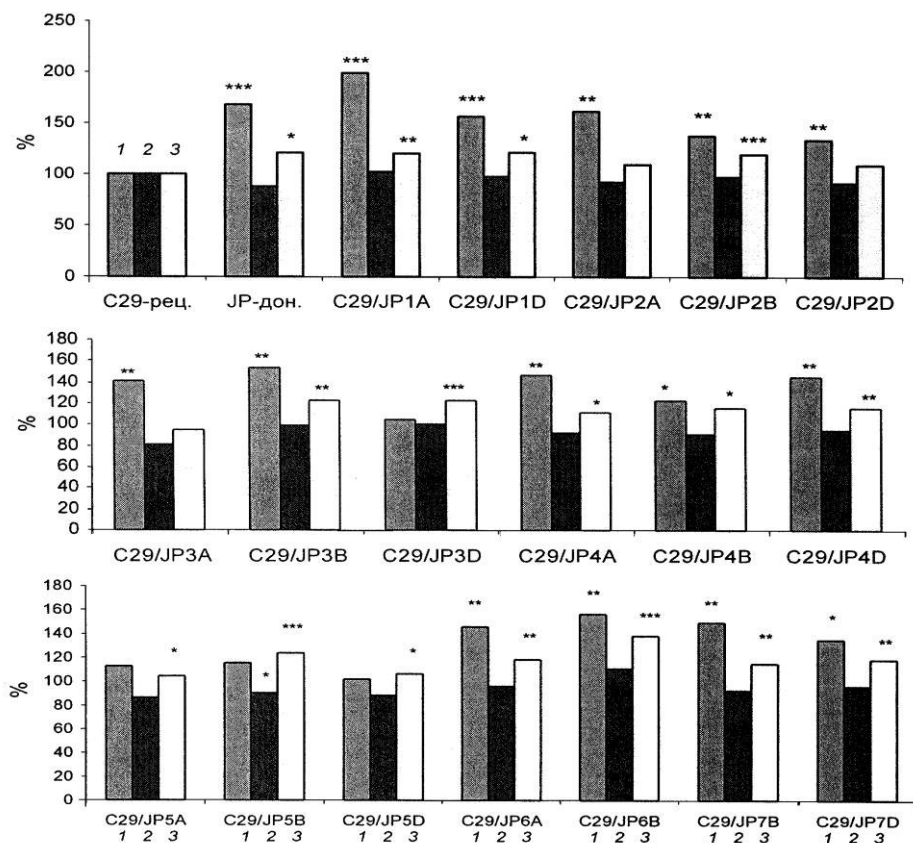


Рис. 24. Эффекты межсортового замещения отдельных пар хромосом (% к реципиенту С29) по удельной активности растворимой ЛОГ семян, Е/мг (1); массе главного колоса, мг (2); массе зерен в колосе, мг (3).

*, **, *** – достоверность различий с сортом-реципиентом: $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$.

Эффект замещения хромосом (различия в уровне значений признака у ЗЛ от сорта-реципиента) может свидетельствовать о вероятном участии замещенной хромосомы в генетической регуляции признака. Хромосомы сорта-донора на генетическом фоне сорта-реципиента оказывали неодинаковое влияние на активность ЛОГ, поэтому эффекты замещения хромосом в отдельных ЗЛ пшеницы проявлялись в разной степени.

3.1.2.3. Липоксигеназная активность в семенах замещенных линий пшеницы Диамант 2/Новосибирская 67 по хромосомам 1 и 6 гомеологических групп

Известно, что 1-я и 6-я гомеологические группы хромосом пшеницы содержат структурные гены, контролирующие синтез запасных белков эндосперма, определяющих качество клейковины. Нами были изучены линии с замещением этих хромосом у сорта

Диамант 2 (Дм) с невысоким качеством клейковины на хромосомы высококачественного сорта Новосибирская 67 (Н67). На рис. 25 мы видим результаты исследования активности ЛОГ в зерновках ЗЛ Дм/Н67 с замещением хромосом 1-й и 6-й гомеологических групп в течение 4 лет репродукции.

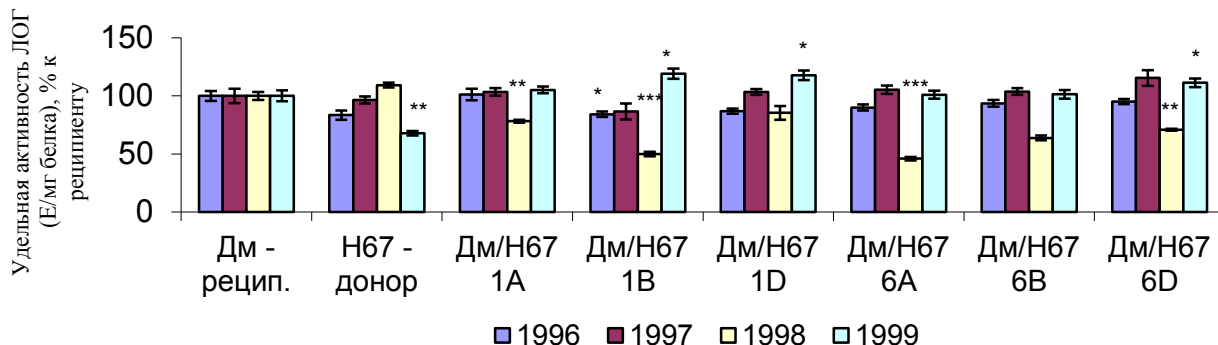


Рис. 25. Вариабельность удельной активности ЛОГ у замещенных линий Диамант 2/Новосибирская 67 (Дм/Н67) в зависимости от года репродукции (% к реципиенту).

*, **, *** – достоверность различий с сортом-реципиентом, $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$

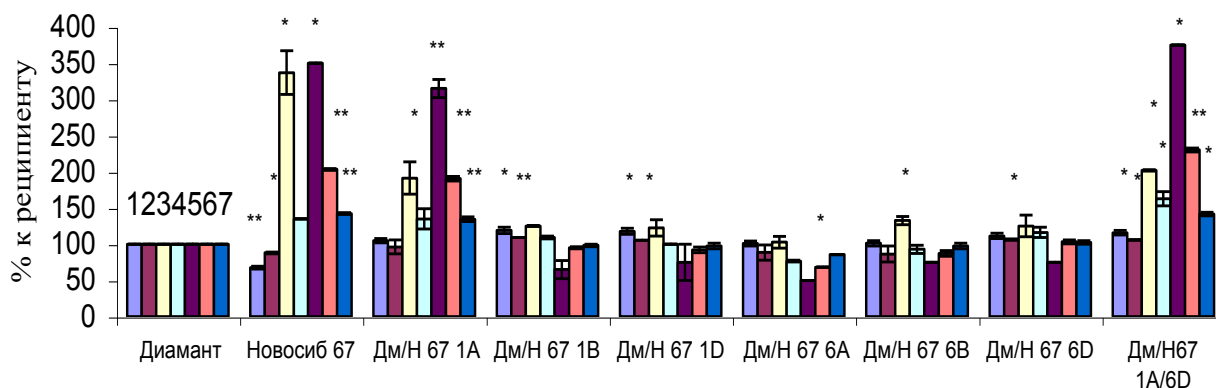


Рис. 26. Удельная активность ЛОГ и технологические параметры качества у замещенных линий Диамант 2/Новосибирская 67 (Дм/Н67) урожая 1999 г. (% к реципиенту).

*, **, *** – достоверность различий с сортом-реципиентом, $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$

1 – уд.активность LOX, Е/мг белка; 2 – клейковина, %; 3 – сила муки, е. а.; 4 – время образования теста, мин; 5 – время устойчивости теста к замесу, мин; 6 – сопротивление теста, мин; 7 – валориметрическая оценка, е. вал.

В разные годы уровни активности ЛОГ в % к сорту-реципиенту отличались. Реципиент и донор различались достоверно по активности фермента только в 1999 году. ЗЛ достигали уровня родителей (1997), превышали (1999), были незначительно (1996) или значительно (1998) ниже реципиента. В течение всего периода наблюдений наименьшая активность ЛОГ наблюдалась у линий с замещением хромосом 6А и 6В, а ЗЛ по хромосомам 1А и 6D показывали наиболее высокую ферментативную активность. У двойной ЗЛ Дм(Н67 1А,6D) (Maystrenko et al., 1998) обнаружилось высокая активность ЛОГ, высокое содержание

клейковины и максимально высокие среди ЗЛ показатели качества клейковины по альвеографу и фаринографу (рис. 26).

Таким образом, нами было показано, что межсортовое замещение хромосом 1-й и 6-й гомеологических групп, связанных с качеством клейковины, на генетическом фоне сорта-реципиента изменяло уровни активности ЛОГ. Вероятно, эти хромосомы несут гены, ответственные за факторы, влияющие на регуляцию активности этого фермента.

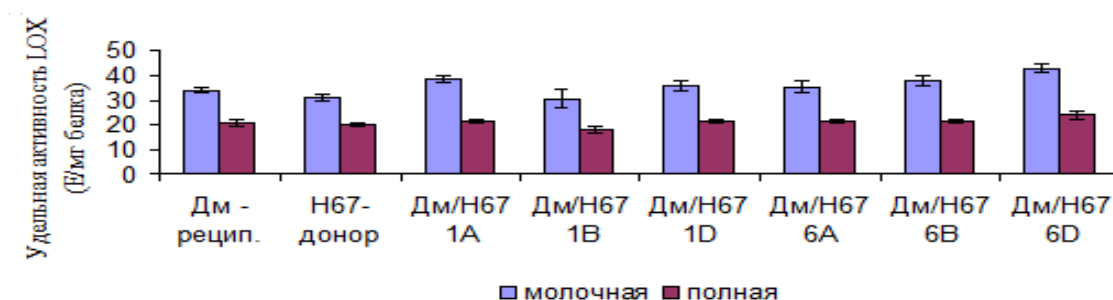


Рис. 27. Активность липоксигеназы у замещенных линий Диамант 2/Новосибирская 67 (Дм/Н67) по хромосомам 1-й и 6-й гомеологических групп урожая 1997 г. в зависимости от стадии спелости зерна.

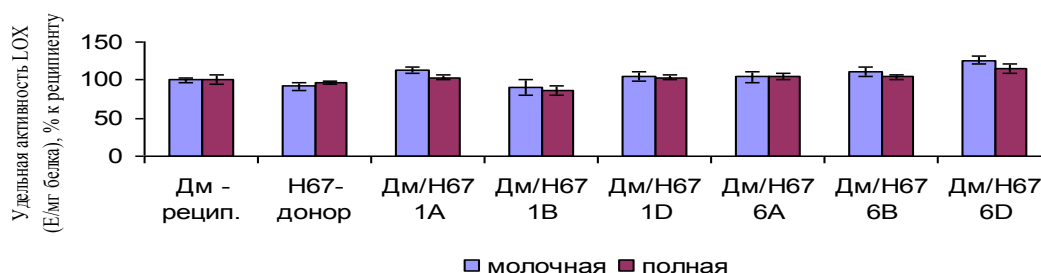


Рис. 28. Активность липоксигеназы у замещенных линий Диамант 2/Новосибирская 67 (Дм/Н67) по хромосомам 1-й и 6-й гомеологических групп урожая 1997 г. в зависимости от стадии спелости зерна относительно сорта-реципиента.

На рис. 27 показана удельная активность ЛОГ на разных стадиях спелости зерна. Активность ЛОГ на молочной стадии спелости зерна была значительно выше, чем при полной спелости. У разных ЗЛ это увеличение варьировало от 18,1 до 112,8 %. Однако в % к реципиенту активность фермента на соответствующих стадиях развития зерна у родителей и замещенных линий по 1-й и 6-й гомеологическим группам хромосом не имела существенных различий. То есть, уже на стадии молочной спелости проявлялся уровень активности ЛОГ, характерный для отдельных генотипов в стадии полной спелости зерна (рис. 28).

3.1.3. Влияние растворимой липоксигеназы семян на хлебопекарные свойства пшеницы

3.1.3.1. Влияние экзогенной соевой липоксигеназы на хлебопекарные параметры пшеницы

Таблица 2. Хлебопекарные параметры теста и хлебцев при различных вариантах замеса теста с добавлением соевой муки без дополнительной активации кислородом

Х/п параметры	Варианты			
	1	2	3	4
Брожение				
V, мл 60 мин	81.8 ± 4.2	-	-	86.5 ± 1.0
90 мин	102.8 ± 3.5	87.0 ± 6.7	97.5 ± 2.5	96.0 ± 1.0
120 мин	108.2 ± 4.8	110.0 ± 7.0	120.0 ± 5.0	104.7 ± 4.3
Расстойка				
60 мин Н	18.0 ± 1.0	17.0 ± 0.7*	20.0 ± 1.0	24.3 ± 0.3***
D	63.6 ± 2.3	58.5 ± 3.2***	65.5 ± 2.5	55.3 ± 0.4***
H/D	0.3 ± 0.02	0.3 ± 0.02	0.3 ± 0.03	0.4 ± 0.01***
90 мин Н	19.5 ± 1.0	17.0 ± 0.1	-	23.6 ± 0.5
D	67.0 ± 0.9	57.5 ± 0.5	-	58.1 ± 4.1
H/D	0.3 ± 0.02	0.3 ± 0.05	-	0.4 ± 0.04*
Хлебцы				
Вес, г	25.9 ± 0.4	27.4 ± 0.3*	27.2 ± 0.5	26.4 ± 0.2
H	25.7 ± 2.1	24.5 ± 1.9	15.5 ± 0.5**	37.6 ± 2.3***
D	63.6 ± 1.8	63.3 ± 3.0	70.5 ± 3.5	56.3 ± 3.3
H/D	0.4 ± 0.03	0.4 ± 0.03	0.2 ± 0.02***	0.7 ± 0.1***
Балл	2.7 ± 0.02	2.7 ± 0.05	2.0 ± 0.01***	4.7 ± 0.1***
Объем хлеба				
V, мл	77.3 ± 5.6	68.3 ± 0.8	75.0 ± 5.0	88.0 ± 5.8
V, мл на 100г муки	359.0 ± 7.6	311.0 ± 3.5***	341.0 ± 23.0	403.0 ± 19.1*
Балл	1.2 ± 0.07	0.3 ± 0.08***	0.8 ± 0.05**	2.0 ± 0.1***
Органолептическая оценка				
Внешний вид	3.0 ± 0.2	3.0 ± 0.1	2.8 ± 0.02	4.3 ± 0.1***
Поверхность	3.4 ± 0.2	4.0 ± 0.1*	3.0 ± 0.1	4.0 ± 0.1*
Форма	3.1 ± 0.1	3.5 ± 0.2	3.0 ± 0.04	4.5 ± 0.1***
Цвет корки	3.1 ± 0.2	2.3 ± 0.1**	2.5 ± 0.02*	4.3 ± 0.1**
Пористость	3.2 ± 0.2	3.3 ± 0.1	3.0 ± 0.01	3.9 ± 0.1**
Эластичность	4.0 ± 0.1	4.0 ± 0.1	4.0 ± 0.1	4.0 ± 0.02
Цвет мякиша	3.7 ± 0.2	3.5 ± 0.2	4.0 ± 0.1	4.3 ± 0.1*
Вкус, запах	3.8 ± 0.1	3.8 ± 0.1	4.0 ± 0.02	4.0 ± 0.3
Общая хлебопекарная оценка				
Балл	3.1 ± 0.1	2.9 ± 0.1	2.9 ± 0.1	3.9 ± 0.1***
Оценка	низкая	низкая	низкая	высокая

Примечание к табл. 2 и табл.3: Варианты: 1 – контроль; 2 – добавление подсолнечного масла; 3 – добавление соевой муки; 4 – добавление соево-дрожжевого гомогената. Представлены средние значения трех повторностей ± ошибка среднего. Пропуски – отсутствие данных. Н – высота в мм; D диаметр в мм. Параметры органолептической оценки указаны в баллах. Статистическая значимость различий с контролем: * P < 0.05; ** P < 0.01; *** P < 0.001.

Известно, что ферментативно активная соевая мука в качестве источника ЛОГ используется производителями в коммерческих препаратах для улучшения пшеничного теста. В нашей работе для поиска положительного эффекта минимального количества (2%) соевой ЛОГ для улучшения пшеничной муки низкого качества, мы использовали различные варианты замешивания пшеничного теста с добавлением субстрата ЛОГ – ПНЖК (подсолнечное масло), соевой ЛОГ (соевая мука) и соево-дрожжевого гомогената.

Таблица 3. Хлебопекарные параметры теста и хлебцев при различных вариантах замеса теста с добавлением соевой муки и дополнительной активацией кислородом

Х/п параметры	Варианты			
	1	2	3	4
Брожение				
V, мл 60 мин	77.3 ± 2.0	89.2 ± 2.1**	81.5 ± 1.5	88.3 ± 1.4**
90 мин	90.0 ± 5.1	96.3 ± 2.7	90.0 ± 0.1	99.7 ± 2.6
120 мин	101.8 ± 2.4	109.7 ± 5.2	109.0 ± 1.0*	109.0 ± 2.9
Расстойка				
60 мин Н	23.7 ± 1.4	21.7 ± 1.2	25.5 ± 0.5	21.7 ± 0.7
D	57.0 ± 1.8	54.3 ± 4.4	47.0 ± 1.0***	52.5 ± 2.0
H/D	0.4 ± 0.04	0.4 ± 0.04	0.54 ± 0.01***	0.4 ± 0.01
120 мин Н	24.3 ± 1.0	26.3 ± 1.6	25.0 ± 0.1	24.3 ± 0.2
D	60.0 ± 3.5	51.3 ± 1.3*	48.5 ± 0.5**	58.0 ± 2.6
H/D	0.4 ± 0.04	0.5 ± 0.02*	0.5 ± 0.01*	0.4 ± 0.03
Хлебцы				
Вес, г	26.0 ± 0.5	27.5 ± 0,4	29.1 ± 1.4	26.4 ± 0.3
H	35.5 ± 2.3	39.3 ± 1.6	44.0 ± 1.0**	41.3 ± 2.7
D	56.0 ± 1.8	56.7 ± 2.7	53.0 ± 0.1	53.0 ± 4.9
H/D	0.6 ± 0.04	0.7 ± 0.04	0.8 ± 0.02***	0.8 ± 0.08***
Балл	4.0 ± 0.04	4.7 ± 0.3*	5.0 ± 0.1***	5.0 ± 0.2***
Объем хлеба				
V, мл	80.0 ± 6.4	81.8 ± 1.4	77.5 ± 2,5	95.6 ± 2.5*
V, мл на 100г муки	359.0 ± 26.4	372.0 ± 6.5	362.0 ± 11.0	426.0 ± 10.2*
Балл	1.2 ± 0.4	1.5 ± 0.4	1.3 ± 0.2	2.5 ± 0.3
Органолептическая оценка				
Внешний вид	4.1 ± 0.1	3.7 ± 0.04***	4.3 ± 0.01***	4.3 ± 0.01***
Поверхность	3.8 ± 0.1	3.8 ± 0.1	4.0 ± 0.1	4.2 ± 0.1*
Форма	4.2 ± 0.3	4.7 ± 0.1	5.0 ± 0.1*	4.7 ± 0.1**
Цвет корки	4.2 ± 0.1	2.7 ± 0.1**	4.0 ± 0.1	4.2 ± 0.1
Пористость	4.0 ± 0.2	3.7 ± 0.1	3.0 ± 0.01***	4.0 ± 0.01
Эластичность	4.0 ± 0.01	4.2 ± 0.03	4.5 ± 0.01***	4.3 ± 0.1*
Цвет мякиша	4.3 ± 0.2	3.8 ± 0.1	3.5 ± 0.1**	4.3 ± 0.1
Вкус, запах	4.0 ± 0.01	4.0 ± 0.2	4.0 ± 0.1	4.0 ± 0.1
Общая хлебопекарная оценка				
Балл	3.7 ± 0.1	3.7 ± 0.1	3.7 ± 0.1	4.1 ± 0.1**
Оценка	средняя	средняя	средняя	высокая

Обозначения как в табл. 2.

На стадии ферментации теста параметры статистически значимо не отличались от контроля во всех вариантах (таблица 2). Параметры расстойки теста и органолептические показатели в вариантах 2 и 3 незначительно отличались от контрольного варианта, а объем хлеба был ниже контроля. Параметры хлебцев в варианте 2 существенно не отличались от контрольного варианта и уступали ему в варианте 3. Общая хлебопекарная оценка в вариантах 2 и 3 была низкая, как и в контроле. Положительный эффект дополнения теста ферментом и субстратом в соево-дрожжевом гомогенате (вариант 4) проявился как статистически значимое увеличение значения Н/D на стадии расстойки и готовых хлебцев, а также в увеличенном объеме хлеба и лучших органолептических характеристиках. Общая хлебопекарная оценка в этом варианте была высокой.

Поскольку активность ЛОГ требует молекулярного кислорода, тесто дополнительно интенсивно перемешивали в течение 1 мин, чтобы насытить его кислородом. Результаты, полученные в тех же экспериментальных вариантах, но с дополнительной активацией теста кислородом показаны в табл. 3.

Таким образом, непосредственное добавление небольшого количества (2%) соевой муки с высоким содержанием ЛОГ или подсолнечного масла, содержащего ее субстрат ПНЖК к тесту во время замешивания, не улучшило хлебопекарные характеристики и уменьшило объем хлебцев. Дополнительное интенсивное насыщение теста кислородом в течение 1 мин привело к значительному увеличению параметров. Ферментация, происходящая в соево-дрожжевом гомогенате, значительно увеличила все изученные параметры, повышая общую хлебопекарную оценку. Самые высокие хлебопекарные характеристики проявились, когда добавление соево-дрожжевого гомогената сочеталось с дополнительной активацией теста кислородом. В этих условиях характеристики хлебцев выросли на 185%, а объем хлеба увеличился на 23.7%.

Эффект обесцвечивания муки связан со способностью некоторых ЛОГ разрушать каротиноидные пигменты (McDonald, 1979; Lomnitski et al., 1993). В нашем исследовании, обесцвечивающий эффект соевой муки ЛОГ был оценен в соответствии с изменением цвета мякиша в вариантах с добавлением соевой муки (на 0.3 балла) и с дополнительной ферментацией (на 0.6 балла) (таб. 2). Дополнительное насыщение теста кислородом, вероятно, усиливает обесцвечивание каротиноидов эндогенной ЛОГ пшеницы, поэтому этот эффект наблюдался в контрольном варианте (табл. 3).

Добавление в тесто ПНЖК в виде подсолнечного масла в соотношении 1:50 не изменило характеристики теста, а в некоторых случаях даже ухудшило их (таб. 2). Однако когда тесто дополнительно активировалось кислородом, хлебопекарные характеристики

улучшались, а комбинированное добавление ПНЖК и фермента в соево-дрожжевом гомогенате вызывало выраженный положительный эффект (табл. 3).

3.1.3.2. Взаимосвязь между активностью эндогенной растворимой липоксигеназы семян и параметрами качества зерна и теста гексаплоидной пшеницы

Взаимосвязь между параметрами, определяющими качество зерна и теста гексаплоидной пшеницы. Оценка качества пшеницы основана на определении технологических параметров муки и теста, включающих мукомольные и физические показатели. Масса 1000 зерен (M1000з) определяет крупность зерна, его плотность и однородность. Стекловидность зерна характеризует консистенцию эндосперма и определяет силу связывания и отношение между гранулами крахмала и белками эндосперма. Размер частиц (РЧ) и удельная поверхность частиц муки (УПЧМ) – две противоположные характеристики, определяющие твердозерность. Содержание сырой клейковины (ССК) в зерне тесно коррелирует с содержанием белка. Поэтому этот параметр определяет питательную ценность пшеницы. Физические параметры теста оценивают при помощи альвеографа и фаринографа. Альвеограф определяет Силу муки, Упругость (Р) и Растяжимость (L) теста, а также отношение Р/L. На основании этих параметров пшеницы классифицируют как имеющие сильную или слабую клейковину. Фаринограф характеризует устойчивость теста в течение длительного технологического процесса хлебопечения. При помощи фаринографа определяют следующие параметры: Водопоглотительная способность муки (ВПС), Время образования теста, Устойчивость теста к замесу, Соппротивление теста, Разжижение теста и интегральный показатель Валориметрическая оценка. Также делают пробные выпечки и определяют качество хлеба по специальной шкале. Существуют и биохимические критерии оценки качества: седиментация в уксусной кислоте, агрегирующая способность клейковины, электрофорез запасных белков, определение активности ферментов тиол-дисульфидного обмена.

В нашей работе для оценки качества пшеницы использовали 15 технологических параметров, и два биохимических показателя: активность ЛОГ и содержание водорастворимого (в/р) белка.

В таблице 4 показана взаимосвязь всех исследуемых параметров на примере данных 2000 г. у пшеничной популяции рекомбинантных инбредных линий (РИЛ) ITMI (International Triticeae Mapping Initiative), полученной от скрещивания сорта мягкой пшеницы Опата-85 и искусственно созданного гексаплоидного синтетика W7984.

М1000 зерен была связана только с удельной активностью ЛОГ. Стекловидность зерна показала корреляцию с содержанием водорастворимого белка, активностью ЛОГ и ССК. ССК, в свою очередь, обнаружила значительную корреляционную связь с ВПС и невысокую, но достоверную с Растяжимостью и Временем образования теста. Содержание в/р белка было положительно связано со Стекловидностью и Разжижением теста. Активность ЛОГ, кроме М1000 зерен, была положительно связана со Стекловидностью и ВПС.

Два параметра твердозерности УПЧМ и РЧ были тесно взаимосвязаны отрицательно. Оба показателя имели корреляции со Стекловидностью: УПЧМ – отрицательную, а РЧ – положительную. УПЧМ имел положительную связь также с Растяжимостью теста, а с показателями Упругость теста, Р/L, ВПС – отрицательную. Показатель РЧ имел противоположный характер корреляций с этими параметрами.

Сила муки была тесно связана с Упругостью теста, но не связана с другими показателями альвеографа Растяжимостью теста и Р/L. Сила муки коррелировала также с ВПС и очень сильно со всеми показателями фаринографа. Упругость показала такие же типы корреляций, как и Сила муки, а также обнаружила связь с параметрами твердозерности и Р/L. Растяжимость теста была положительно связана с Содержанием сырой клейковины, параметрами твердозерности, Р/L и показателями фаринографа, но в отличие от других показателей альвеографа не связана с ВПС. Параметр Р/L имел сильную корреляцию с параметрами твердозерности, а также положительную корреляцию с Упругостью теста и отрицательную – с Растяжимостью теста, а из показателей фаринографа имел положительную связь с ВПС. ВПС была связана со Стекловидностью, ССК, активностью ЛОГ, твердозерностью, Силой муки, Упругостью теста, Р/L, но не связана с Растяжимостью теста, а из показателей фаринографа была связана только со Временем образования теста.

Таблица 4. Парные коэффициенты корреляции показателей качества зерна и теста в популяции ITMI 2000 года

	ЛОГ	В/р бело к	М 1000 з	Стекл.	ССК	УПЧМ	РЧ	Сила муки	Р	L	Р/L	ВПС	Вр. обр.	Устойч.	Сопрот.	Разжиж.
В/р белок	0.04															
М1000з	0.34*	0,19														
Стекл.	0.27*	0,34*	0,18													
ССК	0.21	0,24	0,14	0,38**												
УПЧМ	-0.12	-0,22	0,04	-0,6***	-0,03											
РЧ	0.14	0,21	-0,09	0,58***	0,05	-0,94***										
Сила муки	-0.16	-0,14	-0,2	0,04	0,15	-0,23	0,23									
Р	-0.04	-0,06	-0,03	0,18	0,06	-0,45***	0,44***	0,87***								
L	-0.22	-0,08	-0,07	-0,27*	0,31*	0,43***	-0,42**	0,18	-0,22							
Р/L	0.17	0,09	0,002	0,26	-0,19	-0,53***	0,57***	0,24	0,58***	-0,83***						
ВПС	0.29*	0,27	0,2	0,53***	0,55***	-0,49***	0,49***	0,39**	0,6***	-0,2	0,42**					
Вр. обр.	-0.09	-0,06	0,04	0,23	0,29*	-0,1	0,15	0,65***	0,49***	0,23	0,06	0,29*				
Устойч.	-0.27*	-0,14	-0,18	-0,06	-0,02	0,03	-0,05	0,7***	0,45***	0,31*	-0,08	-0,01	0,64***			
Сопрот.	-0.17	-0,1	-0,07	0,1	0,17	-0,04	0,07	0,75***	0,53***	0,3*	-0,004	0,18	0,93***	0,88***		
Разжиж.	0.21	0,31*	0,2	-0,004	-0,25	-0,01	0,01	-0,55***	-0,37**	-0,44***	0,25	-0,1	-0,48***	-0,55***	-0,56***	
Вал. оц.	-0.19	-0,15	-0,13	0,09	0,27*	-0,02	0,02	0,72***	0,5***	0,43***	-0,15	0,21	0,82***	0,81***	-0,09***	-0,81***

ЛОГ – активность растворимой липоксигеназы семян (ед/мг белка); В/р белок – содержание водорастворимого белка (мг); М1000з – масса 1000 зерен (г); Стекл. – стекловидность зерна (%); ССК – содержание сырой клейковины (%); УПЧМ – удельная поверхность частиц муки (г/см³); РЧ – размер частиц муки (мкм); Р – упругость теста (мм); L – растяжимость теста (мм); ВПС – водопоглотительная способность муки (%); Вр. обр. – время образования теста (мин); Устойч. – устойчивость теста к замесу (мин); Сопрот. – сопротивление теста к замесу (мин); Разжиж. – разжижение теста (ед. фаринोगрафа); Вал. оц. – валориметрическая оценка (ед. валориметра). n=55. Достоверность коэффициента корреляции по t-критерию Стьюдента: * P < 0.05; ** P < 0.01; *** P < 0.001.

Для выявления связи активности эндогенной ЛОГ с качеством клейковины сравнивали результаты корреляционного анализа между активностью ЛОГ и технологическими параметрами в выборках разных наборов пшеничных линий, а также в выборке, включающей все 74 изученных генотипа (табл. 5).

У семи исследованных ЗЛ Дм2/Н67 и их родителей положительная корреляция активности ЛОГ была обнаружена только с Содержанием сырой клейковины. Корреляции с Силой муки и Упругостью теста были отрицательными. У восемнадцати ЗЛ С29/ЯП и их родителей были найдены отрицательные корреляции с М1000з и Силой муки. Таким образом, в двух сериях линий с межсортовым замещением, у которых в определении конечного уровня активности фермента участвует лишь одна хромосома сорта-донора, прослеживается очевидная связь между активностью ЛОГ и технологическими параметрами М1000з, ССК, Сила муки и Упругость теста.

Таблица 5. Коэффициенты корреляции удельной активности ЛОГ с технологическими параметрами качества зерна у разных популяций пшеницы

Технологические параметры	ЗЛ Дм2/Н67 (n = 9) 1999 г.	ЗЛ С29/ЯП (n = 20) 2000 г.	РИЛ ITMI (n = 45) ср.зн. 2000 и 2003г	Все сорта и линии (n = 74)
Масса 1000 зерен, г	-0.39	-0.52*	0.39*	0.25*
ССК, %	0.75*	-0.43	0.08	-0.36**
Сила муки, е. а.	-0.71*	-0.59*	-0.16	0.04
Упругость теста, Р, мм	-0.79*	-0.21	0.04	0.17
Растяжимость теста, L, мм	-0.22	-0.36	-0.20	-0.19
Р/Л	-0.42	0.23	0.25	0.31**
ВПС, %	0.33	-0.22	0.36*	-0.31**

ССК – содержание сырой клейковины; Р/Л – упругость теста/растяжимость теста; ВПС – водопоглощительная способность муки. * , ** –значимо при $P \leq 0.05, 0.01$.

РИЛ популяции ITMI представляют собой иной тип генетического материала, в генотипе которых взаимодействуют между собой все генетические факторы исходных родительских сортов. У ITMI-популяции по средним данным исходных сортов и 43 линий за два года наблюдения обнаружены положительные корреляции с М1000з и ВПС. В выборке, включающей все изученные генотипы активность ЛОГ коррелировала с М1000з, ССК, Р/Л и ВПС.

Невысокие, но статистически значимые корреляционные связи активности эндогенной ЛОГ с такими технологическими показателями, как Масса 1000 зерен, Сила муки, Упругость теста и ВПС, обнаруженные в разных популяциях пшеницы (табл.5) подтверждают, что

фермент оказывает влияние на физические свойства зерна, муки и теста. Однако характер корреляции фермента с некоторыми признаками отличался у изученных нами популяций.

Зависимость корреляционных взаимосвязей между активностью липоксигеназы и параметрами качества клейковины от уровня их значений. Для выяснения причин различия характера корреляций между активностью ЛОГ и некоторыми параметрами у разных пшеничных популяций, мы проанализировали корреляционные связи активности ЛОГ с технологическими показателями в зависимости от уровня ее значений на примере популяции РИЛ ITMI благоприятного 2000 года репродукции (табл. 6).

Таблица 6. Корреляционные связи между удельной активностью ЛОГ и технологическими параметрами качества пшеницы популяции ITMI в выборках с разными уровнями ферментативной активности

Технологические показатели	Вся популяция ITMI	Низкий уровень активности ЛОГ	Высокий уровень активности ЛОГ
<i>Мукомольные параметры</i>			
Масса 1000 зерен (г)	0.31*	0.29	0.42*
Стекловидность (%)	0.32*	0.33	-0.04
Содержание сырой клейковины (%)	0,21	0.32	0.10
Уд. поверхность частиц муки (г/см ³)	-0,17	-0.24	0.10
Размер частиц (мкм)	0,19	0.30	-0.11
<i>Альвеограф</i>			
Сила муки (е. а.)	-0.15	0.32	-0.40*
Упругость теста, P (мм)	-0,12	0.33	0.32
Растяжимость теста, L (мм)	-0,25	-0.21	-0.06
P/L	0,20	0.33	0.04
<i>Фаринограф</i>			
ВПС (%)	0.29*	0.36	0.00
Время образования теста (мин)	-0,05	0.23	-0.35
Время устойчивости теста (мин)	-0,25	0.07	-0.43*
Соппротивление теста (мин)	-0.13	0.22	-0.39*
Разжижение теста (е. ф.)	-0,20	-0.31	0..30
Валориметрическая оценка (е. вал.)	-0.18	0.25	-0.38*

Вся популяция ITMI: n = 55; ср зн. = 114.2, ст. откл. = 5.4. Низкий уровень активности ЛОГ: n = 26, ср зн. = 80.3, ст. откл. = 14.0. Высокий уровень активности ЛОГ: n = 29, ср зн. = 144.6, ст. откл = 29.0).

P/L – упругость теста/растяжимость теста; ВПС – водопоглотительная способность муки.

* –значимо при $P \leq 0.05$.

По результатам корреляционного анализа в выборке, включающей родительские сорта и все 53 изучаемые в этом году линии, активность фермента была достоверно связана с Массой 1000 зерен, Стекловидностью и ВПС. В выборке РИЛ, имеющих низкий уровень

значений активности ЛОГ, не было обнаружено достоверных корреляционных связей активности фермента с технологическими параметрами. В выборке линий с высокими значениями активности была найдена достоверная положительная корреляция с параметром М1000з и отрицательная – с показателями Сила муки, Время устойчивости теста, Валориметрическая оценка. Таким образом, было показано, что взаимосвязь активности ЛОГ с технологическими параметрами зависит от уровня значений активности фермента. При высоком уровне активности ЛОГ, ее связи с технологическими параметрами были в основном отрицательными, за исключением положительной корреляционной связи с Массой 1000 зерен.

Таблица 7. Коэффициенты корреляции между технологическими параметрами качества с низким и высоким уровнями значений и удельной активностью ЛОГ у пшеницы популяции ITMI

Уровни значений параметров	n выборки	Ср. значение выборки	Корреляция с активностью ЛОГ
Масса 1000 зерен, г			
Низкий	29	54.8 ± 0.5	0.13
Высокий	26	62.5 ± 0.7	0.46*
Содержание сырой клейковины, %			
Низкий	25	34.3 ± 0.4	0.20
Высокий	30	39.7 ± 0.4	0.43*
Упругость теста P, мм			
Низкий	35	79.2 ± 1.6	0.02
Высокий	20	126.6 ± 2.7	0.46*
Растяжимость теста L, мм			
Низкий	34	81.5 ± 3.0	-0.45**
Высокий	21	119.6 ± 2.4	-0.54*
P / L			
Низкий	25	0.7 ± 0.04	0.21
Высокий	30	1.5 ± 0.08	0.40*
Разжижение теста, е. ф.			
Низкий	26	54.1 ± 3.0	-0.13
Высокий	29	102.2 ± 5.6	0.44*
Валориметрическая оценка, е. в.			
Низкий	31	51.8 ± 1.2	-0.38*
Высокий	24	66.5 ± 0.7	0.09

*; ** - значимо при $P \leq 0.05, 0.01$.

Также представляло интерес проанализировать корреляционную зависимость между технологическими признаками зерна в выборках с разными уровнями значений и активностью ЛОГ. По результатам, представленным в табл. 7, многие показатели были

связаны с активностью фермента только в выборках с высокими значениями, такие как Масса 1000 зерен, Содержание сырой клейковины, Упругость теста, P/L и Разжижение теста, а Валориметрическая оценка обнаружила отрицательную корреляцию с ЛОГ в выборке с низкими значениями. Эти корреляционные связи свидетельствуют о положительной роли фермента для перечисленных параметров.

Таблица 8. Коэффициенты корреляции между параметрами альвеографа с низким, средним и высоким уровнями значений и удельной активностью ЛОГ у пшеницы популяции ITMI

Уровни значений параметров альвеографа	Среднее значение параметра	Корреляция с активностью ЛОГ
Упругость P, мм		
Низкий	64.9 ± 2.6	-0.17
Средний	92.7 ± 1.9	0.30
Высокий	126.6 ± 2.7	0.46*
Растяжимость L, мм		
Низкий	67.0 ± 4.3	-0.35
Средний	92.9 ± 1.5	-0.47*
Высокий	119.6 ± 2.4	-0.54*
P/L		
Низкий	0.6 ± 0.03	-0.14
Средний	1.0 ± 0.02	-0.21
Высокий	1.7 ± 0.09	0.51*

* - значимо при $P \leq 0.05$.

Обнаружена отрицательная корреляция параметра Растяжимость теста, независимо от уровня значений, с удельной активностью ЛОГ. Это подтверждается анализом корреляционных связей между показателями альвеографа в выборках линий с тремя уровнями значений (низкий, средний и высокий) и удельной активностью фермента, результаты которого представлены в табл. 8. На основании этих данных мы можем предположить, что параметр Растяжимость теста непосредственно зависит от ферментативной активности ЛОГ, которая, вероятно, укрепляет клейковину, препятствуя ее растяжимости.

Нами была исследована активность ЛОГ в выборках РИЛ ITMI, включающих 15 линий с наиболее высокими значениями по каждому из 15 изучаемых технологических параметров. По результатам, представленным в табл. 9, ферментативная активность в данных выборках варьировала от 103.2 ± 7.6 до 133.5 ± 9.4 . При высоких значениях таких параметров, как

Масса 1000 зёрен, Содержание сырой клейковины, Стекловидность, Размер частиц, P/L, ВПС, Разжижение теста, наблюдался более высокий уровень активности фермента. Среднее значение активности ЛОГ в семи выборках по перечисленным параметрам составляло 126.4 ± 1.9 .

Уровень ферментативной активности при высоких значениях таких параметров, как Удельная поверхность частиц муки, Сила муки, Упругость, Растяжимость теста, Время образования, Устойчивость и Сопротивление теста, Валориметрическая оценка, был более низким. Среднее значение удельной активности ЛОГ в восьми выборках по этим технологическим параметрам составляло 108.5 ± 1.2 . Таким образом, оптимальный для хорошего качества диапазон удельной активности ЛОГ составил от 108.5 ± 1.2 до 126.4 ± 1.9 . Средний уровень активности ЛОГ в муке пшеницы популяции ITMI во всех 15 изучаемых выборках с максимальными значениями отдельных технологических параметров при данной методике определения составил 116.8 ± 2.6 .

Таблица 9. Удельная активность ЛОГ в выборках популяции ITMI ($n = 15$) с высокими значениями отдельных технологических параметров

Технологические параметры	Вариация параметра в популяции	Среднее значение параметра в выборке	Активность ЛОГ в выборке
Масса 1000 зерен, г	49.1 – 72.0	64.3 ± 0.9	129.7 ± 13.1
Стекловидность, %	54.5 – 100	93.8 ± 0.9	119.5 ± 9.9
Содержание сырой клейковины, %	29.0 – 46.0	41.4 ± 0.5	133.5 ± 9.4
УПЧМ, см ³ /г	1152 – 3567	2964.3 ± 78.8	107.8 ± 10.6
Размер частиц, мкм	12.1 – 35.0	30.8 ± 0.6	126.8 ± 10.4
Сила муки, е. а.	36 – 418	348.1 ± 9.6	106.5 ± 9.2
Упругость теста, Р, мм	48 – 148	131.5 ± 2.5	110.2 ± 9.6
Растяжимость теста, L мм	19 – 138	124.5 ± 2.3	110.9 ± 10.9
P/L	0.4 – 3.02	1.8 ± 0.1	120.3 ± 8.7
ВПС, %	60.6 – 71.4	69.0 ± 0.3	126.7 ± 9.3
Время образования теста, мин	1.0 – 5.0	4.1 ± 0.2	110.5 ± 8.1
Устойчивость теста, мин	0.5 – 4.0	2.9 ± 0.1	103.2 ± 7.6
Сопротивление теста, мин	1.5 – 8.5	6.7 ± 0.2	104.9 ± 8.2
Разжижение теста, е. ф.	15 – 220	117.7 ± 9.2	128.3 ± 11.6
Валориметрическая оценка, е. в.	30 – 74	68.4 ± 0.6	113.8 ± 8.6

Взаимосвязь между липоксигеназной активностью и текстурой эндосперма пшеницы. В таблице 10 показаны значения активности ЛОГ и параметров текстуры эндосперма у 7 сортов *Triticum aestivum* и 1 синтетического гексаплода в течение двух

вегетационных сезонов. О степени твердозерности судили по двум параметрам УПЧМ и РЧ, первый из которых обратно-, а второй прямопропорционально связан с твердостью зерна.

Таблица 10. Значения активности ЛОГ и параметров текстуры эндосперма у сортов гексаплоидной пшеницы в разные годы

Генотип	Год	Параметры			
		ЛОГ (Е/мг)	УПЧМ (см ² /г)	РЧ (μм)	Стекловид- ность (%)
Чайниз Спринг	2010	225.3	3752	10.7	50
	2011	211.5	3555	11.2	50
Диамант 2	1996	133.6	2304	17.5	99
	1999	136.4	1723	23.4	100
Новосибирская 67	1996	111.6	1715	23.6	87
	1999	92.5	1387	29.1	99.3
Янецкис Пробат	1999	187.6	1465	27.3	99.3
	2000	168.2	1462	27.4	96
Опата 85	2003	71.7	1714	23.5	69.5
	2006	129.6	1558	24.7	53.1
Родина	1999	170.2	1915	20.9	85
	2000	192.6	1884	21.4	82
Саратовская 29	1999	102.2	1305	30.6	96
	2000	112.0	1314	30.4	96
Синтетик W7984	2003	173.7	2778	14.5	61
	2006	247.9	2524	16.0	58.5
Размах значений		71.7 – 247.9	1305 – 3752	10.7 – 30.6	50 – 100
Среднее ± Ст. отклонение		154.2 ± 50.9	2022 ± 766	22.1 ± 6.5	79.9 ± 19,5

ЛОГ – активность растворимой липоксигеназы семян; УПЧМ – удельная поверхность частиц муки; РЧ – размер частиц муки.

Так как параметр РЧ рассчитывается по формуле, используя значения параметра УПЧМ, мукомольные параметры УПЧМ и РЧ, определяющие твердозерность, были связаны между собой тесной отрицательной связью (табл. 11). Стекловидность была связана отрицательно с УПЧМ и положительно с РЧ. Активность ЛОГ показала положительную связь с УПЧМ и отрицательную с РЧ, а также отрицательную связь со Стекловидностью зерна.

Таблица 11. Корреляционные взаимосвязи между активностью ЛОГ и параметрами текстуры эндосперма среди сортов гексаплоидной пшеницы

Параметры	Коэффициенты корреляции		
	ЛОГ	УПЧМ	РЧ
ЛОГ (Е/мг)			
УПЧМ (см ² /г)	0.68**		
РЧ (μм)	-0.68**	-0.96***	
Стекловидность (%)	-0.51*	-0.73**	0.71**

ЛОГ – активность растворимой липоксигеназы семян; УПЧМ – удельная поверхность частиц муки; РЧ – размер частиц муки.

n = 16; *, **, *** – значимо при $P \leq 0.05, 0.01$ и 0.001 , соответственно

Таким образом, в выборке из 16 фенотипов гексаплоидной пшеницы, вариабельность исследуемых параметров в которой обусловлена как генетическими, так и средовыми факторами, была обнаружена отрицательная корреляционная связь активности ЛОГ с твердозерностью и стекловидностью зерна.

Таблица 12. Корреляционные взаимосвязи между активностью ЛОГ и параметрами текстуры эндосперма у трех наборов пшеничных линий

Параметры	Среднее ± Ст. отклонение	Коэффициенты корреляции		
		ЛОГ	УПЧМ	РЧ
Дм2/Нов67				
ЛОГ (Е/мг)	121.8 ± 27.9			
УПЧМ (см ² /г)	1858 ± 186	0.65**		
РЧ (μм)	22.1 ± 2.6	-0.57**	-0.98***	
Стекловидность (%)	90.1 ± 1.9	нз	нз	нз
С29/ЯП				
ЛОГ (Е/мг)	154.2 ± 9.0			
УПЧМ (см ² /г)	1462 ± 100	0.41**		
РЧ (μм)	27.2 ± 2.4	-0.41**	-1.0***	
Стекловидность (%)	97.0 ± 1.5	нз	нз	нз
ITMI				
ЛОГ (Е/мг)	160.0 ± 70.2			
УПЧМ (см ² /г)	2108 ± 753	нз		
РЧ (μм)	21.5 ± 6.8	нз	-0.94***	
Стекловидность (%)	70.7 ± 15.7	0.33**	-0.58**	0.59**

ЛОГ – активность растворимой липоксигеназы семян; УПЧМ – удельная поверхность частиц муки; РЧ – размер частиц муки.

Дм2/Нов67 - n = 36; С29(ЯП) - n = 44; ITMI - n = 90.

, * – значимо при $P \leq 0.01$ и 0.001 , соответственно; нз – незначимо.

Популяция Дм/Нов67 представлена данными двух местоположений в каждом из двух вегетационных сезонов.

В таблице 12 показаны корреляционные взаимосвязи активности ЛОГ, мукомольных параметров и стекловидности в выборках, включающих все значения этих параметров в течение двух лет наблюдения для каждого из трех наборов линий

Вариабельность изучаемых признаков в пределах обеих выборок линий пшеницы с замещением хромосом, состоящих из близкородственных генотипов, определялась главным образом изменением условий среды – температурного и водного режимов и не была высокой. Характер корреляционных взаимосвязей был похожим у двух ЗЛ. Как в наборе ЗЛ ДМ2/Нов67, так и среди ЗЛ С29/ЯП активность ЛОГ отрицательно коррелировала с РЧ и положительно с УПЧМ. Хотя связь между твердостью и стекловидностью зерна встречается часто, стекловидность в данных выборках не обнаружила значимых корреляций ни с одним из исследуемых параметров.

Популяция РИЛ ITMI отличалась широким размахом значений всех признаков. Выборка генотипов этой популяции, включающая данные двух лет наблюдения с контрастными условиями среды, отражает генотипическую и «средовую» вариабельность. В выборке РИЛ ITMI подтвердилась связь твердозерности со стекловидностью (положительная с РЧ и отрицательная с УПЧМ) (табл. 12). Однако активность ЛОГ в этой выборке коррелировала положительно только со стекловидностью, а с мукомольными параметрами значимая связь не проявилась.

Тем не менее, по результатам табл. 12 у всех трех наборов линий гексаплоидной пшеницы, исследованных в течение двух вегетационных сезонов, были обнаружены корреляции ЛОГ с отдельными параметрами, отражающими текстуру эндосперма, что предполагает сопряженность между активностью ЛОГ и текстурой эндосперма.

Подтверждает предположение о связи активности ЛОГ с текстурой эндосперма сравнение корреляционных взаимоотношений интересующих нас признаков в пределах ЗЛ ДМ2(Нов67) в течение двух сезонов, резко отличающихся погодными условиями (табл. 13). Благоприятный год был оптимальным по температурному режиму и осадкам, в неблагоприятном году период налива зерна сопровождался высокими дневными температурами. В неблагоприятных условиях формировалось менее твердое и стекловидное зерно, что согласуется с литературными данными (Li et al., 2013), а средняя активность ЛОГ среди ЗЛ несколько уменьшилась.

Ферментативная активность отрицательно коррелировала с твердозерностью (положительно с УПЧМ и отрицательно с РЧ) как в благоприятных, так и в неблагоприятных условиях созревания зерна. Корреляционный анализ ИУ%, отражающих степень сохранения

уровня значений параметра под воздействием неблагоприятных условий, показал, что ИУ% активности ЛОГ положительно коррелировал с ИУ% РЧ и отрицательно - с ИУ% УПЧМ и стекловидности. ИУ% стекловидности и активности ЛОГ были взаимосвязаны, несмотря на отсутствие значимых корреляций стекловидности и активности ЛОГ в отдельные годы.

Таким образом, в популяции ЗЛ Дм2/Нов67 активность ЛОГ была связана с мукомольными параметрами независимо от условий выращивания, но в неблагоприятной среде связи были выражены сильнее. Изменения уровней значений мукомольных параметров и стекловидности в изменяющихся условиях среды были взаимосвязаны с изменением уровня ферментативной активности.

Таблица 13. Корреляционные связи между активностью ЛОГ и параметрами текстуры эндосперма и их индексами устойчивости у ЗЛ Дм2/Нов67 в контрастных условиях выращивания

Параметры	Среднее \pm Ст. отклонение	Коэффициенты корреляции		
		ЛОГ	УПЧМ	РЧ
Благоприятный год (1999)				
ЛОГ (Е/мг)	142.2 \pm 36.0			
УПЧМ (см ² /г)	1624 \pm 122	0.44*		
РЧ (μм)	25.0 \pm 2.0	-0.46*	-0.99***	
Стекловидность (%)	99.4 \pm 1.0	нз	нз	нз
Неблагоприятный год (1996)				
ЛОГ (Е/мг)	122.6 \pm 9.0 ^a			
УПЧМ (см ² /г)	2160 \pm 216 ^c	0.81**		
РЧ (μм)	18.9 \pm 2.3 ^c	-0.75**	-0.98***	
Стекловидность (%)	92.4 \pm 6.0 ^b	нз	нз	нз
Индексы устойчивости				
ЛОГ (Е/мг)	91.7 \pm 17.4			
УПЧМ (см ² /г)	132.9 \pm 6.9	-0.56*		
РЧ (μм)	75.6 \pm 4.3	0.67**	-0.97***	
Стекловидность (%)	93.0 \pm 6.0	-0.46*	нз	нз

Выборки включают данные двух местоположений; n = 18.

*, **, *** – значимо при $P \leq 0.05, 0.01, 0.01$, соответственно; нз – незначимо.

^{a, b, c} – значимость различий средних значений параметра в благоприятном году от значений в неблагоприятном году при $P \leq 0.05, 0.1, 0.001$, соответственно.

3.1.4. Влияние абиотического стресса на активность липоксигеназы семян, ее хромосомную регуляцию и физиологические параметры пшеницы

3.1.4.1. Липоксигеназная активность в семенах рекомбинантных инбредных линий пшеницы ITMI и ее взаимосвязь с параметрами качества клейковины в различных условиях среды

Популяция РИЛ ITMI изучали в течение 2 полевых вегетаций с кардинально различающимися условиями выращивания. В первом варианте зерно получено при озимом посеве и благоприятных погодных условиях в течение всего сезона. Во втором варианте линии выращивались при яровом посеве, при этом период налива зерна приходился на жаркую и сухую погоду.

Родительский сорт Opata-85 в разных условиях среды имел более низкую удельную активность ЛОГ по сравнению с Синтетиком W7984. Средние значения активности ЛОГ у линий были промежуточными между родительскими значениями, а по размаху изменчивости линии ITMI обнаруживали трансгрессию в обе стороны (табл. 14). Это означает, что обе родительские формы несут как положительные, так и отрицательные аллели, определяющие проявление данного количественного признака.

Исследование полученных результатов с помощью однофакторного дисперсионного анализа показало, что различия между линиями в изученной выборке были существенны на 0.001 % уровне значимости. Доля генетической изменчивости удельной активности ЛОГ составляла 71 %, а паратипической изменчивости – 29 %. Как для родительских форм пшеницы, так и для РИЛ, было характерно повышение удельной активности ЛОГ в 1.4 – 1.8 раз в засушливых условиях 2003 года в сравнении с благоприятными условиями 2000 года.

Таблица 14. Активность липоксигеназы у рекомбинантных инбредных линий ITMI и их родительских форм в разные годы

Год репродукции	Родительские формы		Линии ITMI	
	Opata-85	Синтетик W7984	Ср. значение ± Ст. отклонение	Размах изменчивости
2000 год	71.7 ± 0.8	173.7 ± 1.2	114.2 ± 39.7	53.8 – 197.8
2003 год	129.6 ± 8.6	247.9 ± 11.8	206.3 ± 63.0	119.6 – 337.3

Представлены выборочная средняя ± стандартное отклонение трех биологических повторностей.

Одновременно с активностью ЛОГ в семенах РИЛ популяции ITMI и их родителей изучались активность тиолпротеиндисульфидредуктазы (ТПДО) и показатели качества зерна и теста (Пшеничникова и др., 2006; 2008). В 2000 году были изучены 17 параметров качества зерна и теста, а в 2003 году – показатели альвеографа. В условиях благоприятного 2000 года

активность фермента была положительно связана с Массой 1000 зерен, Стекловидностью и Водопоглотительной способностью муки (табл. 14). Неблагоприятные условия 2003 года значительно повлияли на корреляционные связи между активностью ЛОГ и параметрами альвеографа: статистически значимых корреляций не было обнаружено.

3.1.4.2. Активность растворимой липоксигеназы семян и физиологические параметры в замещенных линиях пшеницы Чайниз Спринг/Синтетик бх при благоприятных условиях и водном дефиците

Действие замещения хромосом на активность ЛОГ семян в зависимости от условий водообеспечения пшеницы было изучено у ЗЛ ЧС/Синбх по всем хромосомам, за исключением 2А, 4А, 6В и 7А, выращенных при оптимальном поливе и в условиях смоделированной почвенной засухи.

В таблице 15 даны значения ферментативной активности родителей ЧС и Синбх и средние значения в популяции ЗЛ. По уровню активности ЛОГ сорт-реципиент ЧС в контроле не отличался от Синбх, а в условиях засухи превосходил его. Значения в ЗЛ значительно варьировали как в условиях засухи, так и в контрольном варианте. Минимальные, максимальные и средние значения в ЗЛ при разных условиях водообеспечения достоверно не изменялись в зависимости от водного режима.

Независимо от условий водообеспечения Синбх уступал ЧС по большинству изученных параметров (МП на стадии кущения и цветения, МК, Количество и Масса зерна в колосе, М1000з). Исключение составляет Константа скорости агрегации белков и Длина колоса. В контроле эти параметры были выше у Синбх. В условиях засухи значения параметра ДК снижались у обоих генотипов и значимо не различались. Константа скорости агрегации белков значительно возрастала у ЧС в условиях засухи, а у Синбх, напротив – снижалась. Такая же тенденция наблюдалась и по активности ЛОГ. Этот факт может свидетельствовать о вовлечении растворимой семенной формы фермента в процесс агрегации запасных белков при образовании клейковины, усиливающегося в условиях засухи у сорта ЧС, и снижающегося у синтетической пшеницы.

По ИУ% большинства признаков Синбх и ЧС статистически значимых различий не проявили. Такие признаки, как активность ЛОГ, Масса флагового листа и Скорость агрегации белков под действием засухи лучше сохранялись у ЧС, а Масса побега в стадии цветения – у Синбх.

Таблица 15. Значения активности растворимой ЛОГ семян, биомассы побега, агрегирующей способности белков и компонентов урожая у пшеницы ЧС, Син и ЗЛ ЧС/Синбх по разным гомеологическим группам хромосом при разных режимах водообеспечения

Параметры	ЧС	Синбх	ЗЛ ЧС/Синбх			
			min	max	max/min	$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$
Нормальное водообеспечение						
семРЛОГ	75.2 ± 7.2	60.6 ± 1.4	51,6 ± 0.1	134.0 ± 7.8	2,6	95.2 ± 27.2
МП кущен.	4.6 ± 0.3	2.0 ± 0.1**	1.8 ± 0.0	4.6 ± 0.1	2.6	3.2 ± 0.6
МП цветен.	16.8 ± 1.1	5.7 ± 0.2***	10.2 ± 0.1	22.8 ± 0.3	2.2	15.7 ± 3.1
МФ цветен.	0.9 ± 0.1	0.5 ± 0.0*	0.9 ± 0.1	1.9 ± 0.4	2.01	1.3 ± 0.3
САБ	1.5 ± 0.1	92.5 ± 0.7***	1.4 ± 0.1	48.4 ± 1.1	34.6	13.7 ± 10.1
ДК	6.6 ± 0.2	9.5 ± 0.6*	5.8 ± 0.3	11.2 ± 0.2	1.9	7.2 ± 1.0
МК	1.7 ± 0.07	0.9 ± 0.01***	0.4 ± 0.0	1.7 ± 0.1	4.3	1.4 ± 0.2
КЗК	45.2 ± 2.5	18.4 ± 0.3***	4.8 ± 0.1	43.8 ± 0.9	9.1	33.7 ± 6.0
МЗК	1.4 ± 0.1	0.5 ± 0.0***	0.5 ± 0.0	1.6 ± 0.0	3.0	1.1 ± 0.1
КЗ	0.03 ± 0.00	0.02 ± 0.0	0.03 ± 0.0	0.1 ± 0.0	2.2	0.04 ± 0.01
М1000з	31.4 ± 1.4	26.6 ± 2.5*	25.7 ± 0.1	38.3 ± 0.1	1.5	33.9 ± 0.8
Водный дефицит						
семРЛОГ	104.1 ± 6.3	28.2 ± 5.3***	42.5 ± 4.0	158.0 ± 9.8	3,7	106.4 ± 28.1
МП кущен.	2.5 ± 0.1	1.1 ± 0.0***	2.0 ± 0.1	3.9 ± 0.1	1.9	3.1 ± 0.6
МП цветен.	8.9 ± 0.1	3.6 ± 0.2***	5.0 ± 0.2	12.2 ± 0.8	2.4	8.6 ± 1.5
МФ цветен.	0.5 ± 0.0	0.2 ± 0.0***	0.3 ± 0.0	0.6 ± 0.0	2.0	0.4 ± 0.1
САБ	118.7 ± 0.9	19.7 ± 0.2***	1.5 ± 0.1	290.6 ± 2.5	193.7	104.9 ± 76.8
ДК	4.8 ± 0.3	5.6 ± 0.4	3.9 ± 0.3	6.8 ± 0.1	1.7	5.1 ± 0.6
МК	0.6 ± 0.0	0.4 ± 0.0**	0.4 ± 0.0	0.8 ± 0.0	2.0	0.6 ± 0.1
КЗК	18.2 ± 1.0	10.2 ± 0.8**	9.8 ± 0.3	23.4 ± 1.1	2.4	17.7 ± 2.1
МЗК	0.5 ± 0.1	0.2 ± 0.0	0.3 ± 0.0	0.7 ± 0.1	3.0	0.5 ± 0.1
КЗ	0.03 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.02 ± 0.0	0.09 ± 0.01	3.7	0.04 ± 0.01
М1000з	29.1 ± 2.7	21.9 ± 4.3	14.4 ± 0.0	35.4 ± 0.0	2.5	27.7 ± 1.1
ИУ%						
семРЛОГ	139.8	46.5***	82.3	135.4	1.6	111.6 ± 15.4
МП кущен.	53.7	56.4	42.5	153.9	3.6	101.6 ± 26.1
МП цветен.	53.2	62.9*	27.9	85.9	3.1	58.8 ± 19.3
МФ цветен.	52.7	40.0*	14.2	55.6	3.9	37.7 ± 10.0
САБ	7913	21***	33	5573	168.9	1552 ± 1497
ДК	72.7	58.9	59.5	95.0	1.6	72.8 ± 6.0
МК	12.5	7.1	6.8	13.6	2.0	12.0 ± 1.6
КЗК	40.5	54	41.5	204.2	4.9	61.0 ± 17.2
МЗК	39.3	43.8	12.4	58.5	4.7	43.1 ± 7.5
КЗ	87.1	104.0	47.6	245.0	5.1	99.4 ± 38.1
М1000з	96.5	82.3	40.9	97.0	2.4	80.8 ± 9.6

семРЛОГ – активность растворимой ЛОГ семян, МП – масса побега, САБ – скорость агрегации белков, ДК – длина колоса, МК – масса колоса, КЗК – количество зерен в колосе, МЗК – масса зерна в колосе, КЗ – крупность зерна, М1000з – масса 1000 зерен. В таблице даны средние значения ± средняя ошибка выборочной средней.

*, ***, - значимость различий с сортом-реципиентом при $P \leq 0.05, 0.001$, соответственно.

На рисунке 29 показаны средние значения удельной активности ЛОГ семян пшеницы у каждой из ЗЛ ЧС/Синбх и у родителей в условиях оптимального полива и водного дефицита.

Как уже было замечено, характер изменения уровня активности ЛОГ в условиях засухи по сравнению с контролем у родителей отличался. Ферментативная активность у ЧС в условиях засухи увеличивалась, а у Синбх уменьшалась. У большинства ЗЛ значения активности достоверно не изменялись при засухе. Две линии в условиях водного дефицита достоверно увеличивали свои значения. Это ЗЛ по хромосомам 1А и 5В. Только одна линия с замещением хромосомы 4D имела такой же характер изменения, как и Синбх.

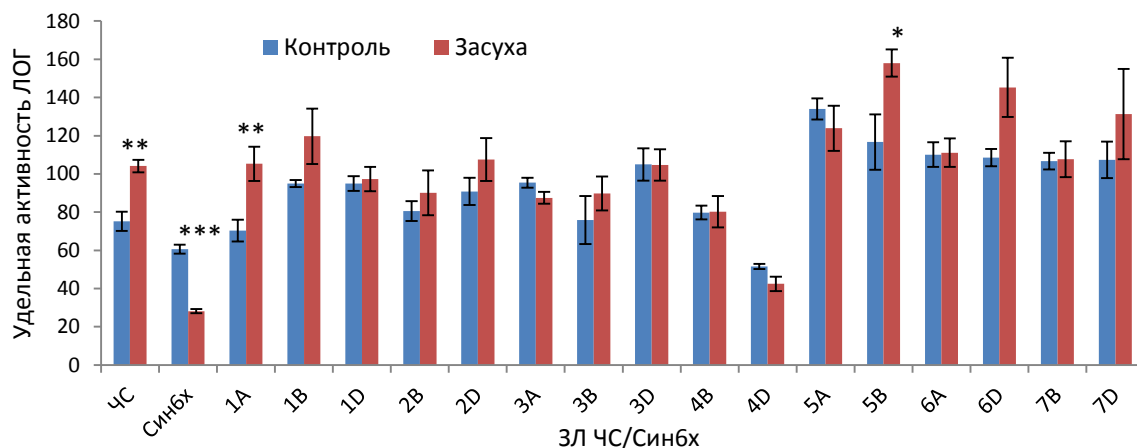


Рис. 29. Активность ЛОГ семян пшеницы у ЗЛ ЧС/Синбх и их родителей при оптимальном и недостаточном водообеспечении.

На рисунке даны средние значения \pm среднее отклонение.

*, **, *** - значимость различий уровня значений активности ЛОГ в условиях засухи относительно контроля при $P \leq 0.05, 0.01, 0.001$, соответственно.

Большинство ЗЛ превосходили ЧС по ферментативной активности (рис. 30). Достоверно ниже сорта-реципиента оказалась только линия с замещением хромосомы 4D. При засухе выше сорта-реципиента оказались ЗЛ по хромосомам 1В, 5А, 5В, 6D и 7D. Достоверно ниже сорта-реципиента оказались ЗЛ по хромосомам 1D, 2В, 3А, 3В, 4В и 4D.

Таким образом, по удельной активности ЛОГ в условиях засухи реципиент ЧС в своих значениях превосходил донора Синбх. Эффект замещения хромосом по этому признаку проявился в контроле у одной линии – с замещением хромосомы 4D, а при засухе – кроме линии 4D, эффект замещения проявился также у ЗЛ по хромосомам 1D, 2В, 3А, 3В и 4В. Это свидетельствует о том, что эти хромосомы участвуют в генетическом контроле активности ЛОГ в условиях засухи и контроль ферментативной активности при водном дефиците более сложный.

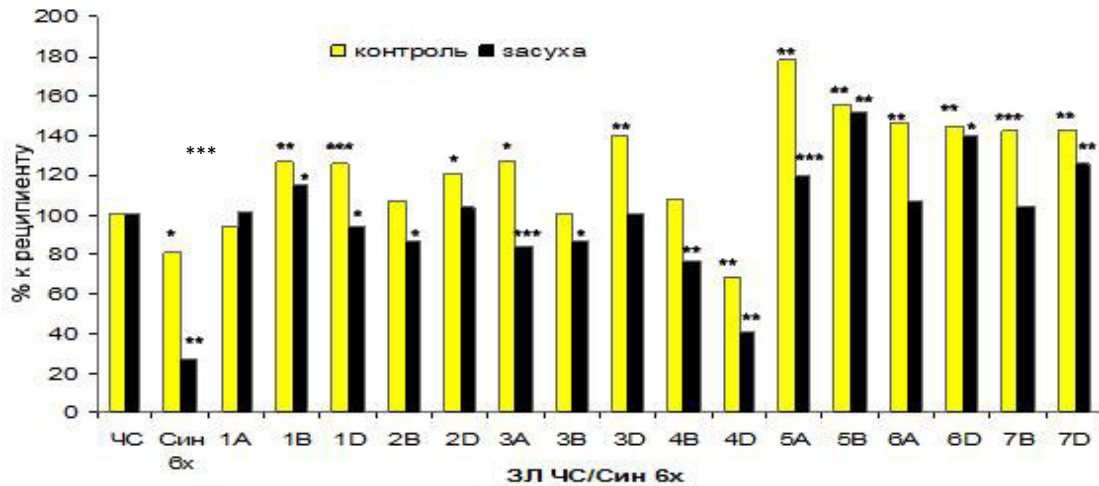


Рис. 30. Активность ЛОГ семян пшеницы у ЗЛ ЧС/Син и их родителей в % к реципиенту.

*, **, *** - достоверность различий с сортом-реципиентом при $P \leq 0.05, 0.01, 0.001$, соответственно.

3.1.4.3. Активность липоксигеназы в семенах интрогрессированных рекомбинантных линий Чайниз Спринг/Синтетик 6х при благоприятных условиях и водном дефиците

Сорт гексаплоидной пшеницы ЧС и синтетический гексаплоид Син6х являются родителями и другой изученной нами популяции – интрогрессированных рекомбинантных линиях (ИРЛ) ЧС/Син6х по хромосомам генома D. Активность растворимой ЛОГ семян и параметры зерновой продуктивности были изучены у родителей и ИРЛ ЧС/Син6х по трем хромосомам генома D (табл. 16) при оптимальном и недостаточном водном обеспечении. При нормальном водном режиме родители ИРЛ различались по длине стебля и колоса, а также по количеству и массе зерна в колосе. Параметр ДК был выше у Син6х, а по остальным параметрам Син6х уступал сорту-реципиенту.

Однако в условиях засухи статистически значимые различия между родителями наблюдали только по уровню значений активности ЛОГ и длине стебля. Оба параметра были ниже у Син6х. Под воздействием засухи уровень активности ЛОГ увеличивался у обоих родителей, но ИУ% активности ЛОГ был значительно выше у ЧС. Ферментативная активность у ЧС под воздействием засухи увеличилась в 2,4 раза, а у Син6х увеличилась только на 23.5%. ИУ% биометрических параметров (ДС, ДК, ККК) у родителей значимо не различались, а ИУ% параметров зерновой продуктивности (КЗК, МЗК, КЗ) оказались выше у Син6х. Средние значения параметров среди ИРЛ ЧС/Син6х в условиях водного дефицита снижались в разной степени, кроме активности ЛОГ и крупности зерна.

Таблица 16. Значения активности растворимой ЛОГ семян и компонентов урожая у пшеницы ЧС, Синбх и ИРЛ ЧС/Синбх по хромосомам 4D, 5D и 7D при разных режимах водообеспечения

Параметры	ЧС	Синбх	ИРЛ ЧС/Синбх			
			min	max	max/ min	$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$
Нормальное водообеспечение						
семРЛОГ	64.4 ± 2.6	56.3 ± 3.3	15.9 ± 1.7	70.3 ± 1.2	4.4	36.1 ± 4.2
ДС	75.9 ± 2.1	49.1 ± 1.0**	47.8 ± 0.1	95.7 ± 0.1	2.0	73.1 ± 3.0
ДК	5.9 ± 0.5	8.8 ± 0.7*	4.2 ± 0.2	6.3 ± 0.8	1.5	5.7 ± 0.6
ККК	13.6 ± 0.2	10.5 ± 1.3	8.2 ± 0.5	17.1 ± 2.3	2.1	12.9 ± 0.5
КЗК	24.0 ± 2.2	13.0 ± 1.1**	16.9 ± 0,5	39.1 ± 1,2	2.3	26.7 ± 4.4
МЗК	0.7 ± 0.0	0.4 ± 0.0*	0.5 ± 0.0	1.2 ± 0.1	2.4	0.8 ± 0.1
КЗ	0.03 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.03 ± 0.0	0.06 ± 0.00	2.2	0.03 ± 0.00
Водный дефицит						
семРЛОГ	155.9 ± 2.9	70.2 ± 1.7**	19.2 ± 0.9	138.8 ± 8.4	7.2	57.7 ± 8.3
ДС	49.6 ± 1.4	31.1 ± 1.0**	36.3 ± 0.1	61.9 ± 6.6	1.7	42.7 ± 1.0
ДК	4.4 ± 0.3	5.9 ± 0.5	3.8 ± 0.1	5.7 ± 0.8	1.5	4.6 ± 0.4
ККК	8.6 ± 0.6	6.4 ± 0.8	5.3 ± 0.9	9.1 ± 0.5	1.7	7.8 ± 0.2
КЗК	9.4 ± 0.8	7.9 ± 1.5	4.6 ± 0.2	13.2 ± 0.5	2.9	31.4 ± 11.1
МЗК	0.2 ± 0.0	0.2 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.4 ± 0.1	2.9	0.2 ± 0.0
КЗ	0.03 ± 0.0	0.03 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.07 ± 0.01	3.0	0.04 ± 0.01
ИУ%						
семРЛОГ	240.6	123.5*	42.2	601.2	14.2	188.9 ± 37.0
ДС	65.3	63.1	46.5	84.6	1.8	60.1 ± 1.87
ДК	74.6	67.0	71.0	104.2	1.5	83.1 ± 6,8
ККК	62.9	61.0	45.3	100.0	2.2	62.0 ± 2.3
КЗК	39.2	60.8*	9.3	63.0	6.8	31.4 ± 11.1
МЗК	30.7	55.8*	13.3	63.0	4.7	30.8 ± 2.3
КЗ	85.4	104.0*	47.6	227.3	4.8	105.4 ± 28.2

семРЛОГ – активность растворимой ЛОГ семян, ДС – длина стебля, ДК – длина колоса, ККК – количество колосков в колосе, КЗК – количество зерен в колосе, МЗК – масса зерна в колосе, КЗ – крупность зерна.

Представлены выборочная средняя ± средняя ошибка выборочной средней ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$) двух независимых экспериментов. Минимальные (min) и максимальные (max) значения параметров при разном водном режиме в популяции ИРЛ представлены как $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$ биологических повторностей. *, ** – достоверность различий между средними значениями ЧС и Синбх, $P < 0.05; 0.01$ соответственно.

Родительские генотипы ЧС и Синбх в экспериментах с ИРЛ (табл. 16) и ЗЛ (табл. 15), условия выращивания которых были близкими, но не идентичными, отличались по абсолютным значениям изученных в обеих популяциях параметров семРЛОГ, ДК, КЗК, МЗК и КЗ. Уровень активности ЛОГ в обоих экспериментах в контрольных условиях у ЧС и Синбх значимо не различался. При водном дефиците проявились различия: в первом эксперименте (ЗЛ) у обоих родителей уровень ферментативной активности был ниже, чем во

втором (ИРЛ), а у Синбх он даже снижался. Максимальные, минимальные и средние значения активности ЛОГ в популяции ИРЛ были ниже, чем в популяции ЗЛ. Остальные параметры в обоих случаях показали одинаковые тенденции по уровню значений родителей и их различий между собой, независимо от условий водообеспечения, а также по ИУ%. По данным двух экспериментов зерновая продуктивность в условиях водного дефицита лучше сохранялась у Синбх – синтетического гексплоида, несущего в своем геноме интрогрессии дикого злака *Ae. taushii*.

3.1.4.4. Взаимосвязь между активностью растворимых форм липоксигеназы семян пшеницы и параметрами биометрии, зерновой продуктивности, агрегирующей способности клейковинных белков при благоприятных условиях и водном дефиците

В таблице 17 показаны корреляционные связи активности растворимой ЛОГ семян с массой побега, параметрами продуктивности и способностью белков клейковины к агрегации в популяции ЗЛ пшеницы ЧС/Синбх, выращенной при разном водном режиме. В контрольных (оптимальных) условиях ферментативная активность не имела достоверных связей ни с одним из этих параметров. В условиях засухи активность ЛОГ показала достоверные положительные корреляции с Массой побега, Константой скорости агрегации, Массой зерен в колосе и Крупностью зерна. Индексы устойчивости параметров не имели статистически значимых связей с ИУ% активности фермента.

Таблица 17. Корреляционные связи активности растворимой ЛОГ семян с массой побега, скоростью агрегации клейковинных белков и зерновой продуктивностью в ЗЛ ЧС/Синбх.

	МП	САБ	МЗК	КЗ
Контроль	-0.03	-0.09	0.25	0.22
Засуха	0.57**	0.43*	0.44*	0.46**
ИУ%	0.33	0.09	0.01	0.12

МП – масса побега, САБ – скорость агрегации белков, МЗК – масса зерна в колосе, КЗ – крупность зерна.

*, ** – достоверность коэффициентов корреляции, $P < 0.05; 0.01$ соответственно.

Однако в популяции ИРЛ ЧС(Синбх) положительная связь ферментативной активности с параметрами биометрии и продуктивности зерна не была обнаружена, за исключением корреляции с ДС (табл. 18). Были найдены значимые положительные корреляции активности ЛОГ с ДК и ККК при оптимальном водообеспечении. ИУ% по активности ЛОГ и отдельным параметрам были взаимосвязаны отрицательно.

Таблица 18. Корреляционные связи активности растворимой ЛОГ семян с биометрическими параметрами и зерновой продуктивностью в ИРЛ ЧС/Синбх по хромосоме 5D при разных режимах водообеспечения

	ДС	ДК	ККК	МЗК	КЗ
Контроль	0.3	0.44*	0.41*	-0.06	-0.34
Засуха	0.42*	0.09	-0.01	-0.31	-0.26
ИУ%	-0.25	-0.53**	-0.58**	-0.33	-0.43*

ДС – длина стебля, ДК – длина колоса, ККК – количество колосков в колосе, МЗК – масса зерна в колосе, КЗ – крупность зерна. *,** – достоверность коэффициентов корреляции, $P < 0.05$; 0.01 соответственно.

Таким образом, обнаружено, что корреляционная зависимость между активностью ЛОГ и параметрами зерновой продуктивности в условиях водного дефицита может различаться у разных популяций пшеницы. Вероятно, влияние активности ЛОГ на продуктивность зерна пшеницы, выращенной в условиях недостатка влаги, неоднозначно, и его характер проявляется в зависимости от уровня ферментативной активности и сочетания с другими факторами.

3.2. Липоксигеназы проростков пшеницы

3.2.1. Изоферментный состав липоксигеназы проростков пшеницы

Изоферментный состав ЛОГ проростков различался у родителей ИРЛ ЧС/Син. Во фракции растворимых белков у ЧС методом вестерн-блоттинга была обнаружена одна молекулярная форма ЛОГ с молекулярной массой 104 кДа, как в контроле, так и в условиях стресса (рис. 31). У Синбх выявилось три молекулярные формы фермента с молекулярной массой 90, 104 и 115 кДа. Было замечено снижение интенсивности окраски полос в условиях стресса у обоих родителей.

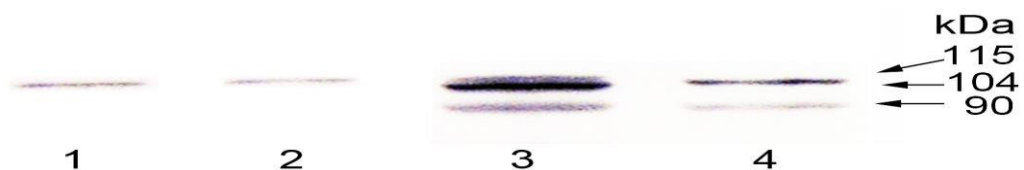


Рис. 31. Молекулярные формы ЛОГ в растворимой белковой фракции 3-суточных проростков пшеницы.

1 – Чайниз Спринг, проращивание на воде; 2 – Чайниз Спринг, проращивание на 12% р-ре ПЭГ6000; 3 – Синтетик бх, проращивание на воде; 4 – Синтетик бх, проращивание на 12% р-ре ПЭГ6000.

В микросомальной фракции у ЧС выявилось две изоформы ЛОГ с молекулярным весом 104 и 90 кДа (рис. 32). Интенсивность окраски изофермента 104 кДа была меньше при осмотическом стрессе. Те же молекулярные формы ЛОГ были обнаружены у Синбх, но в

отличие от ЧС, у Синбх интенсивность окраски изофермента 104 кДа была выше в контрольных условиях и увеличивалась в условиях стресса. Кроме того у Синбх была обнаружена дополнительная изоформа 115 кДа. У Синбх интенсивность окраски полос всех трех выявленных мембраносвязанных изоформ ЛОГ была выше в условиях осмотического стресса.

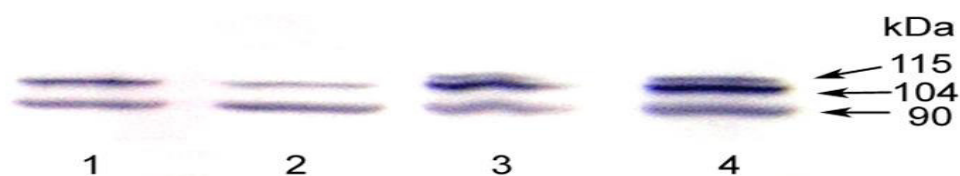


Рис. 32. Молекулярные формы ЛОГ в микросомальной белковой фракции 3-суточных проростков пшеницы

1 – Чайниз Спринг, проращивание на воде; 2 – Чайниз Спринг, проращивание на 12% р-ре ПЭГ6000; 3 – Синтетик бх, проращивание на воде; 4 – Синтетик бх, проращивание на 12% р-ре ПЭГ6000.

3.2.2. Активность липоксигеназы в проростках интрогрессированных рекомбинантных линий пшеницы Чайниз Спринг/Синтетик бх по хромосоме 5D в разных условиях проращивания

Таблица 19. Активность растворимой и мембранной форм ЛОГ в проростках пшеницы ИРЛ ЧС/Син бх по хромосоме 5D

Параметры	ЧС	Синбх	ИРЛ			
			min	max	max/ min	$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$
Проращивание на воде						
прРЛОГ	1.1 ± 0.3	0.6 ± 0.0	0.3 ± 0.0	1.4 ± 0.1	4.1	0.7 ± 0.1
прМЛОГ	23.0 ± 0.0	23.7 ± 0.8	17.6 ± 0.3	34.4 ± 2.6	2.0	25.0 ± 1.1
Проращивание на ПЭГ6000						
прРЛОГ	0.5 ± 0.0	0.7 ± 0.2	0.2 ± 0.0	1.9 ± 0.1	10.2	1.0 ± 0.1
прМЛОГ	25.4 ± 1.6	40.2 ± 2.3*	19.0 ± 0.4	53.9 ± 2.3	2.8	34.2 ± 4.2
Индексы устойчивости						
прРЛОГ	45.3	117.5*	41.5	527.0	12.7	179.8 ± 37.8
прМЛОГ	110.7	170.3	80.0	259.3	3.2	140.9 ± 19.6

прРЛОГ – активность растворимой формы ЛОГ проростков; прМЛОГ – активность мембраносвязанной формы проростков. Представлены выборочная средняя ± средняя ошибка выборочной средней ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$) двух независимых экспериментов. Минимальные (min) и максимальные (max) значения параметров в популяции ИРЛ в разных условиях проращивания представлены как $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$ биологических повторностей.

* – достоверность различий между средними значениями ЧС и Синбх при $P < 0.05$.

Семена проращивали в течение трех суток на воде и 12% растворе ПЭГ6000, имитирующем осмотический стресс у растений при действии засухи. У проростков удельная

активность мембранной формы фермента была значительно выше, чем растворимой (табл. 19).

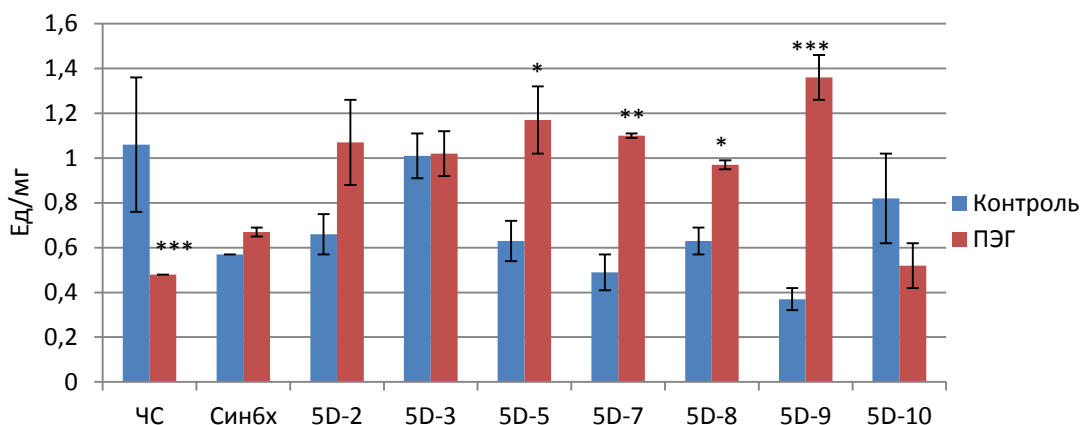


Рис. 33. Активность растворимой ЛОГ проростков пшеницы ИРЛ ЧС/Синбх по хромосоме 5D и их родителей при проращивании на воде и ПЭГ6000.

*, **, *** – Достоверность различий уровня значений при проращивании на р-ре ПЭГ6000 относительно контроля, $P \leq 0.05, 0.01, 0.001$ соответственно.

Активность растворимой формы ЛОГ проростков в контрольных условиях проращивания на воде у ЧС была немного выше, чем у Синбх, но снижалась более чем в 2 раза при проращивании на ПЭГ6000. У Синбх активность ЛОГ в стрессовых условиях значимо не изменялась. Уровни значений ферментативной активности в ИРЛ варьировали (рис. 33), однако относительно сорта реципиента все линии, за исключением 5D-10, независимо от условий проращивания, а также по ИУ% показали тенденции донора Синбх (рис. 34).

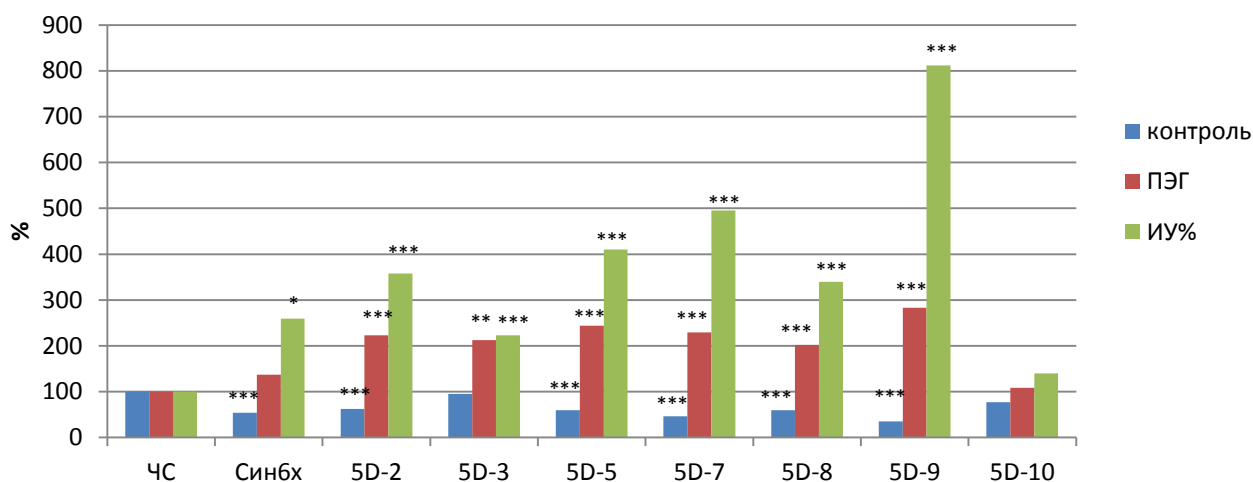


Рис. 34. Уровни активности растворимой ЛОГ в проростках пшеницы ИРЛ ЧС/Синбх по хромосоме 5D в разных условиях проращивания и ИУ% относительно сорта-реципиента.

*, ** – Достоверность различий с ЧС по t-критерию Стьюдента, $P \leq 0.05, 0.01$ соответственно.

В микросомальной белковой фракции активность ЛОГ в контрольных условиях проращивания на воде у родителей достоверно не отличалась. В условиях осмотического стресса активность ЛОГ у ЧС значимо не изменялась, а у Синбх увеличивалась почти в 2 раза. При действии стресса активность ЛОГ увеличивалась у четырех линий (рис. 35). В контроле по уровню ферментативной активности линии 5D-3 и 5D-5 отличались от сорта – реципиента, но только одна линия 5D-5 была выше ЧС. В условиях стресса уровни активности у линий 5D-2, 5D-3, 5D-5, 5D-6, как и у Синбх, были статистически значимо выше чем у реципиента. Эти линии показали такой же характер изменения уровня активности ЛОГ под воздействием стресса, как Синбх (рис. 36).

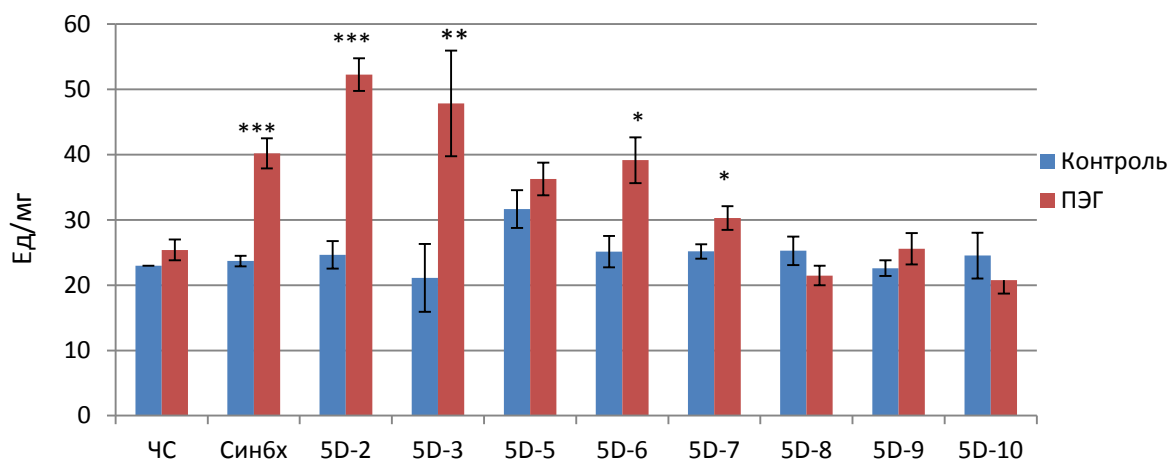


Рис. 35. Активность мембраносвязанной ЛОГ проростков пшеницы ИРЛ ЧС/Синбх по хромосоме 5D и их родителей при проращивании на воде и ПЭГ6000.

*, **, *** - Достоверность различий уровня значений при проращивании на р-ре ПЭГ600 относительно контроля по t-критерию Стьюдента, $P \leq 0.05, 0.01, 0.001$ соответственно.

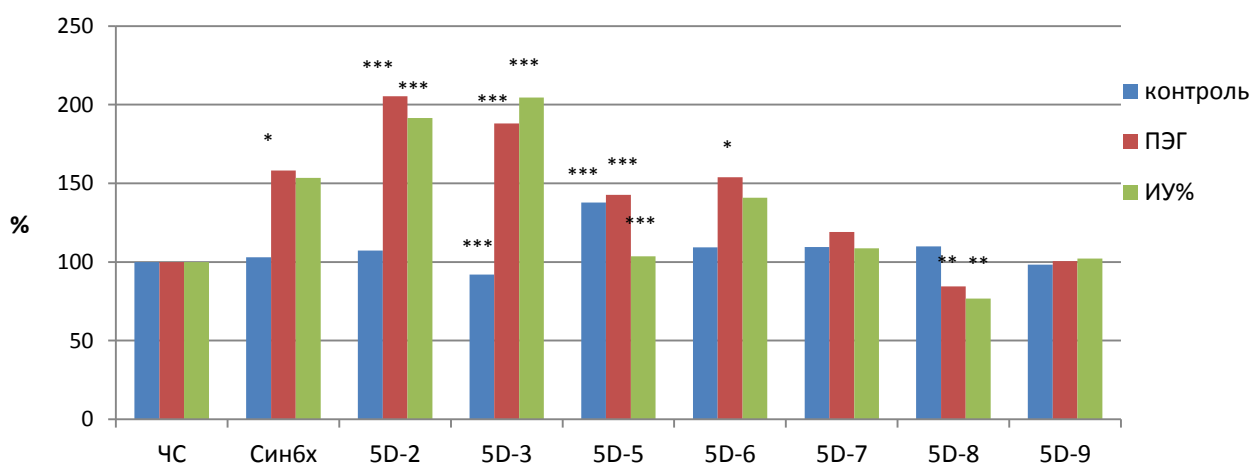


Рис. 36. Уровни активности мембраносвязанной ЛОГ в проростках пшеницы ИРЛ ЧС/Синбх по хромосоме 5D в разных условиях проращивания и ИУ% относительно сорта-реципиента.

*, ** – Достоверность различий с ЧС по t-критерию Стьюдента, $P \leq 0.05, 0.01$ соответственно.

Таким образом, у проростков синтетической пшеницы осмотический стресс не вызывал значимого изменения активности растворимой ЛОГ, но инициировал увеличение уровня активности мембранной ЛОГ, что, вероятно, связано с участием этой формы фермента в защите проростков при осмотическом стрессе. Вариации в уровнях активности обеих форм ЛОГ среди ИРЛ позволили картировать эти признаки на хромосоме 5D (глава 3.5.2).

3.3. Липоксигеназы листьев пшеницы

3.3.1. Изоферментный состав липоксигеназы листьев пшеницы

В растворимой белковой фракции (супернатант после ультрацентрифугирования), выделенной из листьев пшеницы сибирских сортов Тулунская 12 и Иркутская, были обнаружены две молекулярные формы ЛОГ (р1ЛОГ, р2ЛОГ), различающиеся относительной электрофоретической подвижностью R_f , (рис. 37). Молекулярная форма р1ЛОГ была обнаружена на стадии кущения растений и имела R_f 0.09. Молекулярная форма р2ЛОГ с R_f 0.03 найдена только на самой ранней стадии развития растений, а на стадии кущения отсутствовала. Интенсивность окраски изоформ различалась в зависимости от генотипа и условий выращивания.

В растворимой белковой фракции I (без хлоропластов и митохондрий), выделенной из листьев пшеницы сорта ЧС, обе молекулярные формы присутствовали на стадии цветения растений (рис. 38). Фермент р2ЛОГ был найден также в растворимой фракции II, содержащей растворимые белки митохондрий и хлоропластов. Молекулярные формы р1ЛОГ и р2ЛОГ присутствовали у всех изученных нами сортов и ЗЛ, как при оптимальном, так и при недостаточном водообеспечении. Они были обнаружены также у пшеницы при озимом посеве: в сентябре присутствовала молекулярная форма р2ЛОГ, в октябре и ноябре – р1ЛОГ, которая сохранялась в листьях до мая (рис. 39).

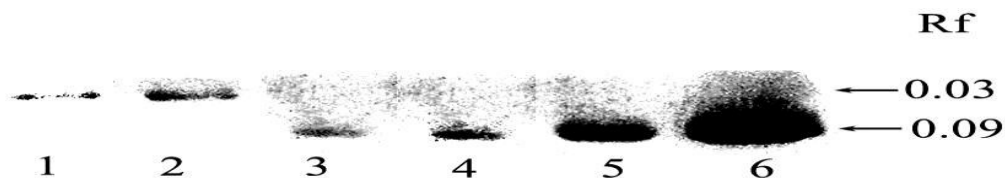


Рис. 37. Растворимые изоформы ЛОГ в листьях пшеницы при водном дефиците.

1 – Иркутская, 3 недели после прорастания; 2 – Тулунская 12, 3 недели после прорастания;
3 – Иркутская, кущение, контроль; 4 – Иркутская, кущение, засуха;
5 – Тулунская 12, кущение, контроль; 6 – Тулунская 12, кущение, засуха.

Молекулярная форма фермента с Rf 0.04, обнаруженная в микросомальной фракции белков листьев пшеницы ЧС, Синбх и ЗЛ ЧС/Синбх, обозначенная нами как мЛОГ, была найдена только в образцах растений, подвергавшихся засухе (рис. 38). Отсутствие мЛОГ и ее ферментативной активности в контрольных образцах свидетельствовало о том, что индукция этой мембраносвязанной ЛОГ была вызвана почвенной засухой.

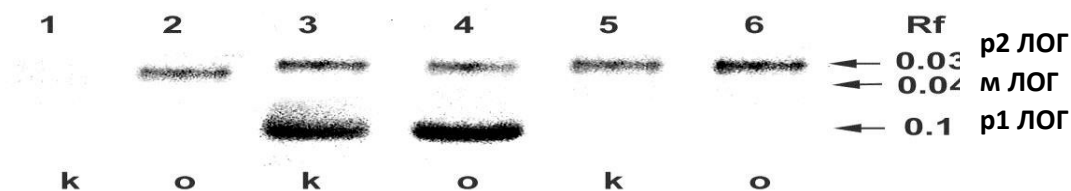


Рис. 38. Селективное окрашивание ЛОГ в 7% ПААГ разных белковых фракций листьев пшеницы Чайниз Спринг в стадии цветения.

1, 2 – микросомальная фракция;

3, 4 – супернатант после центрифугирования при 105000g (растворимая фракция I);

5, 6 – ресуспендированный осадок после центрифугирования при 9500g (растворимая фракция II);

к – контроль; о – засуха.

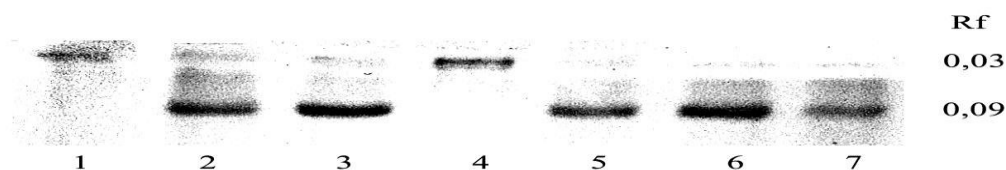


Рис. 39. Растворимые изоформы ЛОГ в листьях пшеницы при действии низких температур

1 – Тулунская 12, сентябрь; 2 – Тулунская 12, октябрь; 3 – Тулунская 12, ноябрь; 4 – Иркутская озимая, сентябрь; 5 – Иркутская озимая, октябрь; 6 – Иркутская озимая, ноябрь; 7 – Иркутская озимая, май.

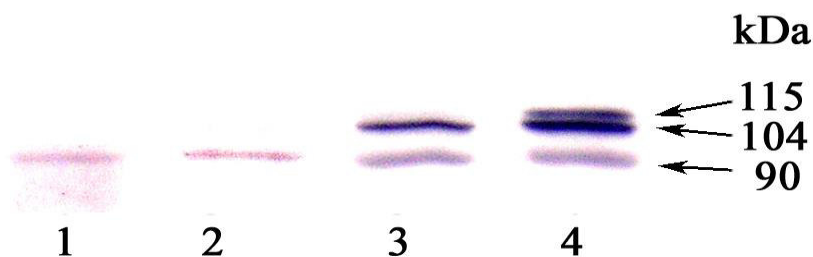


Рис. 40. Растворимые изоферменты ЛОГ в листьях пшеницы при разных режимах водообеспечения (без хлоропластов).

1 – Чайниз Спринг, кушение, нормальное водообеспечение; 2 – Чайниз Спринг, кушение, засуха;

3 – Синтетик бх, кушение, нормальное водообеспечение; 4 – Синтетик бх, кушение, засуха.

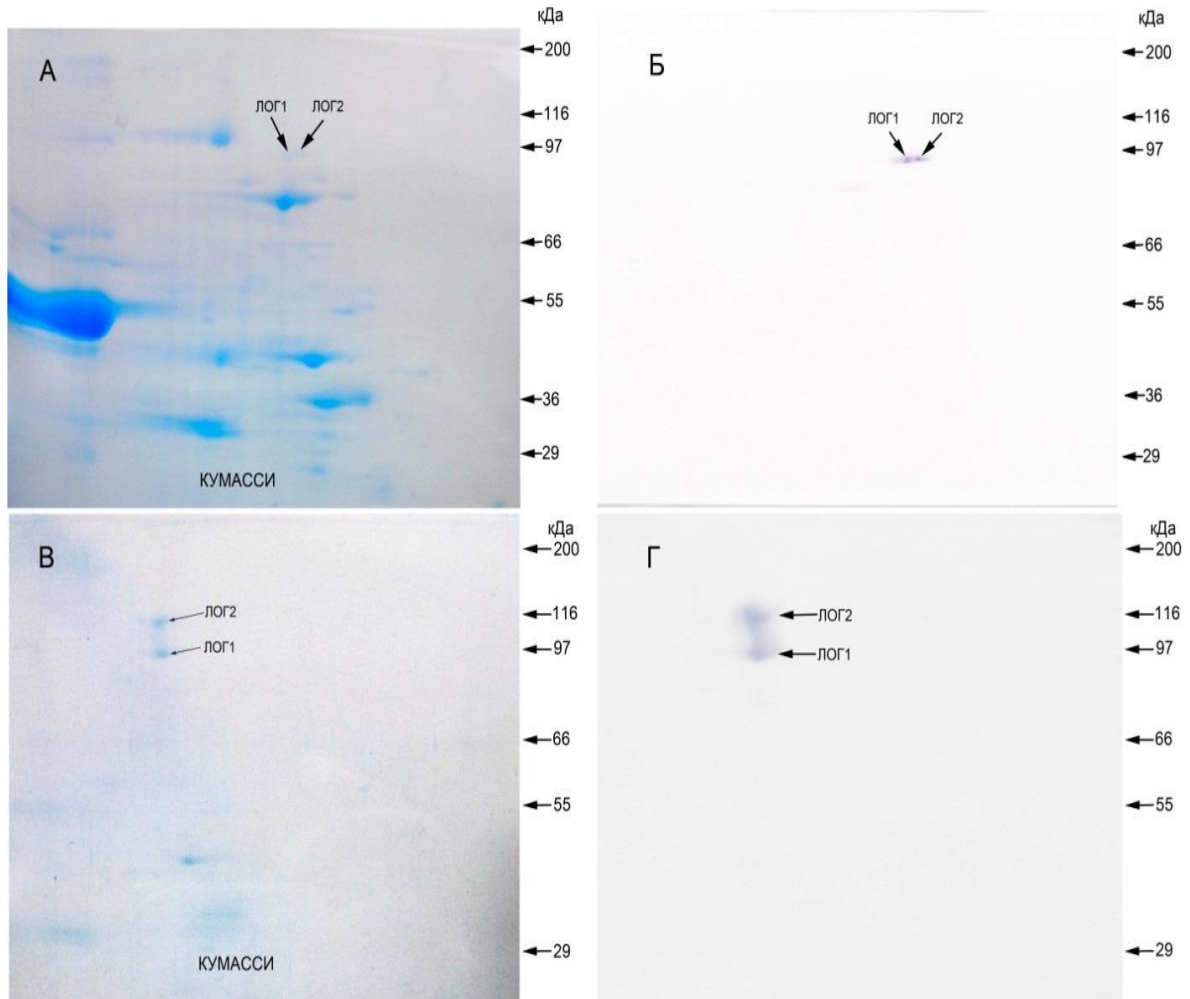


Рис. 41. Иммунохимическая детекция на липоксигеназу у двух генотипов (Чайниз Спринг и Синтетик бх) в растворимой белковой фракции.

На рисунке приведён гель 2D, окрашенный Кумасси, и иммуноблоттинги с антителами на липоксигеназу: А, Б – ЧС; В, Г – Синбх.

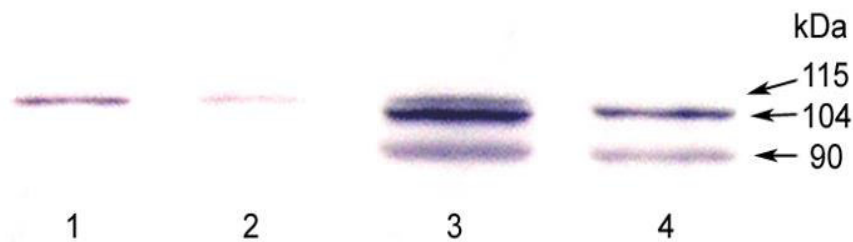


Рис. 42. ЛОГ в микросомальной фракции листьев пшеницы при разных режимах водообеспечения (без хлоропластов).

1 – Чайниз Спринг, кушение, нормальное водообеспечение; 2 – Чайниз Спринг, кушение, засуха; 3 – Синтетик бх, кушение, нормальное водообеспечение; 4 – Синтетик бх, кушение, засуха.

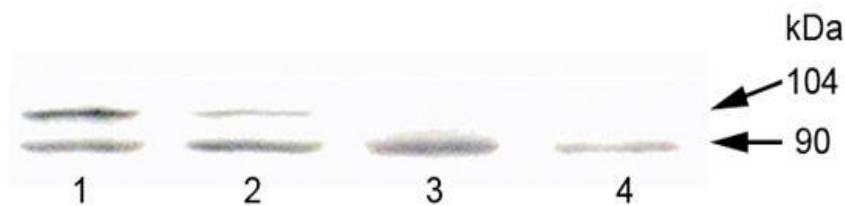


Рис. 43. Растворимые изоферменты ЛОГ в хлоропластах пшеницы при разных режимах водообеспечения

1 - Чайниз Спринг, кушение, нормальное водообеспечение; 2 - Чайниз Спринг, кушение, засуха;
3 – Синтетик бх, кушение, нормальное водообеспечение; 4 - Синтетик бх, кушение, засуха.



Рис. 44. Связанные с мембранами хлоропластов изоферменты ЛОГ в листьях пшеницы при разных режимах водообеспечения

1 - Чайниз Спринг, кушение, нормальное водообеспечение; 2 - Чайниз Спринг, кушение, засуха;
3 – Синтетик бх, кушение, нормальное водообеспечение; 4 - Синтетик бх, кушение, засуха.

Генотипы Чайниз Спринг и Синтетик бх в условиях почвенной засухи различались по составу как растворимых, так и мембранных изоферментов. В контрольных условиях у ЧС выявилась одна молекулярная форма 90 кДа, Синбх имел две растворимые молекулярные формы 90 и 104 кДа (рис. 40). Однако при иммунохимической детекции на ЛОГ у ЧС при нормальном водообеспечении выявилось две молекулярные формы фермента с одинаковой молекулярной массой 90 кДа, а у Синбх подтвердилось наличие двух молекулярных форм 90 и 104 кДа (рис. 41). В условиях засухи молекулярный состав у ЧС оставался без изменений, а Син бх появлялась третья изоформа 115 кДа (рис. 40). Интенсивность окраски во всех случаях была выше у синтетической пшеницы.

В микросомальной фракции ЧС независимо от условий водообеспечения имел одну молекулярную форму 115 кДа, интенсивность окраски которой снижалась в условиях засухи. У Синбх – в контроле, кроме изоформы 115 кДа выявлялись еще две дополнительные изоформы 90 и 104 кДа; однако, изоформа 115 кДа исчезала в условиях

засухи (рис. 42). Интенсивность окраски оставшихся изоформ у Синбх незначительно снижалась при водном дефиците.

Во фракции растворимых хлоропластных белков (рис. 43) родители тоже отличались по количеству изоферментов ЛОГ. ЧС имел две молекулярные формы 90 и 104 кДа, а Синбх только одну 90 кДа. В условиях засухи количество изоферментов у генотипов оставалось неизменным.

Во фракции хлоропластных мембранных белков (рис. 44) У ЧС в контроле было две молекулярные формы 104 и 90 кДа, в условиях засухи выявлялась третья молекулярная форма 115 кДа, а интенсивность окраски изоформы 104 кДа значительно увеличивалась. У Синбх как в контроле, так и в условиях засухи выявлялась только одна молекулярная форма 90 кДа. Интенсивность ее окраски была слегка выше в условиях волного дефицита.

Таким образом, в листьях пшеницы было обнаружено пять растворимых и шесть связанных с клеточными мембранами молекулярных форм ЛОГ. Изоферментный состав ЛОГ изменялся в зависимости от фазы развития, генотипа и условий выращивания растений. У Синбх были выявлены две растворимых и две мембраносвязанных молекулярные формы ЛОГ, которые отсутствовали у ЧС. Однако у Син бх отсутствовали одна хлоропластная растворимая и две связанные с мембранами хлоропластов молекулярные формы фермента, выявляемые у ЧС.

3.3.2. Влияние абиотического стресса на активность растворимых и мембраносвязанных форм липоксигеназы листьев и ее взаимосвязь с физиологическими параметрами пшеницы

3.3.2.1. Активность разных форм липоксигеназы в листьях замещенных линий пшеницы Чайниз Спринг/Синтетик бх в условиях оптимального и недостаточного водоснабжения

Таблица 20. Активность разных форм ЛОГ в листьях пшеницы ЗЛ ЧС/Син и их родителей в разных условиях водообеспечения

Фракции белков	Формы ЛОГ	ЧС-реципиент		Синбх-донор		ЗЛ ЧС/Синбх	
		Контроль	Засуха	Контроль	Засуха	Контроль	Засуха
Микросомальная	мЛОГ	нет	0.1 ± 0.0	нет	0.3 ± 0.0	нет	0.6 ± 0.4
Растворимая I	p1ЛОГ+	3.1 ± 0.4	1.9 ± 0.2	0.9 ± 0.1	2.5 ± 0.3	2.7 ± 1.7	1.4 ± 0.8
	p2ЛОГ						
Растворимая II	p2ЛОГ	3.3 ± 0.5	3.6 ± 0.4	3.6 ± 0.5	2.1 ± 0.2	4.1 ± 1.6	1.9 ± 1.0

В таблице дано среднее значение трех биологических повторностей ± стандартное отклонение.

В таблице 20 представлены значения активности выявленных нами молекулярных форм ЛОГ в трех белковых фракциях, выделенных из листьев пшеницы ЗЛ ЧС/Синбх на стадии цветения, у родителей и средние значения активности ЛОГ 16 изученных ЗЛ.

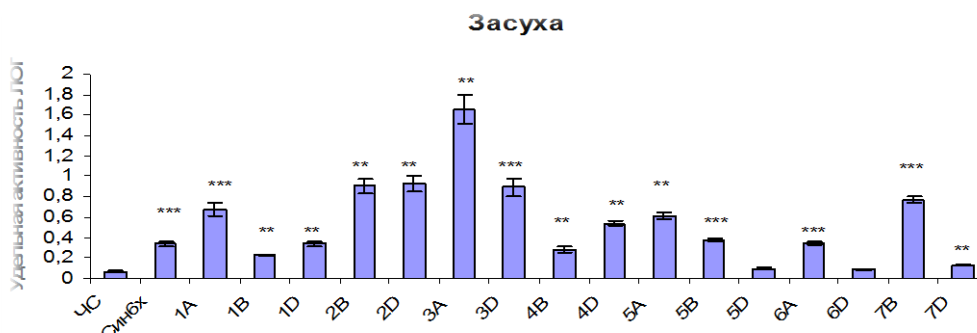


Рис. 45. Активность мЛОГ в микросомальной белковой фракции, выделенной из листьев пшеницы ЗЛ ЧС/Синбх и их родителей.

** , *** – Достоверность различий с сортом-реципиентом на 1, 0.1% уровнях значимости.

У ЗЛ ЧС/Синбх в микросомальной белковой фракции листьев была обнаружена изоформа мЛОГ, которая индуцировалась засухой. Ее активность у сорта-реципиента ЧС была очень низкой, а у донора Синбх – значительно выше (рис. 45). Все изученные ЗЛ значительно превышали сорт-реципиент по этому признаку, за исключением линий с замещением хромосом 5D и 6D. Интересен тот факт, что именно эти ЗЛ отличались наибольшей засухоустойчивостью, а одна из самых чувствительных к засухе линий, ЗЛ по хромосоме 3А, имела самую высокую активность мЛОГ (данные по засухоустойчивости генотипов показаны в статье Osipova et al., 2011).

Ферментативная активность в суммарной растворимой фракции I, содержащей р1ЛОГ и р2ЛОГ, у родителей ИРЛ ЧС/Синбх значительно различалась как в контроле, так и в условиях засухи (рис. 46). При оптимальном водном режиме активность ЛОГ у донора хромосом была низкой, а у реципиента – высокой. В условиях недостатка влаги реципиент значительно снижал уровень активности, как и большинство ЗЛ. Однако у линий с замещением хромосом 1А и 3А уровень активности достоверно не отличался от контроля, а у донора и линий с замещением хромосом 1D и 5А значительно повышался. Вероятно, у этих генотипов увеличение уровня активности при действии засухи происходит за счет увеличения активности р1ЛОГ, так как в растворимой фракции II, содержащей только р2ЛОГ, во всех образцах уровень активности снижался или достоверно не изменялся (рис. 47).

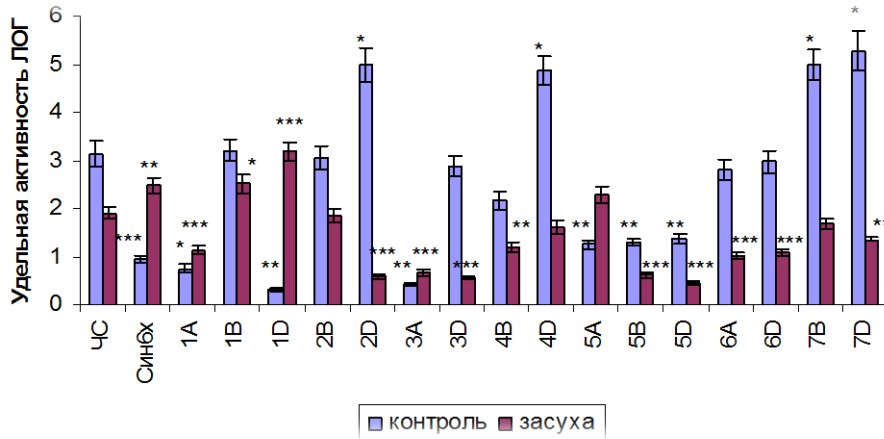


Рис. 46. Суммарная активность p1ЛОГ и p2ЛОГ в растворимой белковой фракции I, выделенной из листьев пшеницы ЗЛ ЧС/Синбх и их родителей.

*, **, *** – Достоверность различий с сортом-реципиентом на 5, 1, 0.1% уровнях значимости.

Это подтверждают также результаты селективного окрашивания ЛОГ в пластинках ПААГ в данной белковой фракции, выделенной из листьев пшеницы в фазе кушения растений, где у отдельных генотипов мы наблюдали значительное увеличение интенсивности окраски зоны растворимой ЛОГ в условиях водного дефицита по сравнению с контролем (рис. 37).

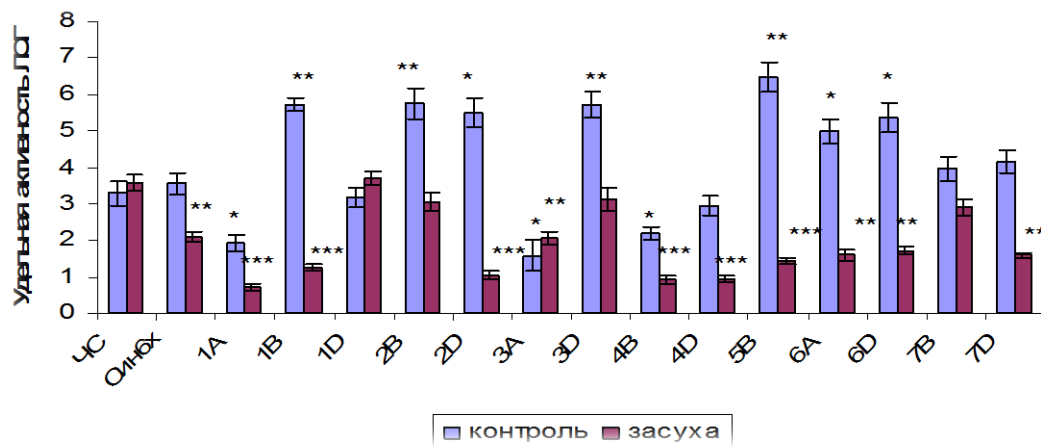


Рис. 47. Активность p2ЛОГ в растворимой белковой фракции II, выделенной из листьев пшеницы ЗЛ ЧС/Синбх и их родителей.

*, **, *** – Достоверность различий с сортом-реципиентом на 5, 1, 0.1% уровнях значимости.

Уровни ферментативной активности изоформы p2ЛОГ у родителей в контроле достоверно не различались (рис. 47). Линии с замещением хромосом 1B, 2B, 2D, 3D, 5B, 6A и 6D были достоверно выше, а ЗЛ по хромосомам 1A, 3A, 4B – достоверно ниже ЧС по этому

признаку. В условиях засухи уровень активности данной молекулярной формы ЛОГ у Син6х был значительно ниже, чем у ЧС, а эффект замещения хромосом проявился у всех линий, за исключением линий с замещением хромосом 1D, 2B, 3D, 7B. Син6х и большинство линий снижало уровень активности изоформы р2ЛОГ в условиях водного дефицита. Однако у сорта-реципиента и линий с замещением хромосом 1D и 3A уровень активности ЛОГ в опытном варианте не отличался от контроля.

Результаты изучения активности нескольких форм ЛОГ в листьях 3Л ЧС/Син6х и их родителей показали, что эффект замещения хромосом по активности мембранной формы ЛОГ листьев, индуцированной засухой, проявился у всех замещенных линий, за исключением 3Л по хромосомам 5D и 6D. В условиях нормального водообеспечения эффект замещения по суммарной активности р1ЛОГ и р2ЛОГ был обнаружен у линий с замещением хромосом 1A, 1D, 3A и трех хромосом 5 гомеологической группы, а в условиях засухи – в линиях с замещением хромосом 1B и 1D. Однако по активности р2ЛОГ в условиях засухи эффект замещения, был обнаружен у большинства 3Л – по хромосомам 1A, 1B, 2D, 3A, 4B, 4D, 6A, 6D и 7D. Вероятно, эти хромосомы генома пшеницы участвуют в регуляции уровня активности фермента.

3.3.2.2. Активность разных форм липоксигеназы и параметры газообмена и фотосинтеза в листьях интрогрессированных рекомбинантных линий пшеницы Чайниз Спринг/Синтетик 6х по хромосомам 2D, 5D и 7D в условиях разного водоснабжения

Для более полного разделения изоферментов ЛОГ и выявления их физиологической функции было проведено более детальное фракционирование белкового экстракта из листьев растений пшеницы в фазе кущения, принадлежащих к популяции ИРЛ ЧС/Син6х с теми же родителями, что и в популяции 3Л, описанной в предыдущей главе. Были изучены 20 интрогрессированных рекомбинантных линий по хромосоме 2D, 8 линий по хромосоме 5D и 13 линий по хромосоме 7D. Были получены четыре фракции с преимущественным содержанием: цитозольной ЛОГ – листРЛОГ (частично соответствует р1ЛОГ из листьев растений пшеницы 3Л ЧС/Син6х); мембранной ЛОГ, за исключением хлоропластных мембран – листМЛОГ (может частично соответствовать мЛОГ из пшеницы 3Л ЧС/Син6х); растворимой ЛОГ хлоропластов – хлРЛОГ (может частично соответствовать р2ЛОГ из пшеницы 3Л ЧС/Син6х); ЛОГ, связанной с мембранами хлоропластов – хлМЛОГ.

Таблица 21. Значения активности разных форм ЛОГ, биомассы побега, содержания фотосинтетических пигментов, параметров газообмена и флюоресценции хлорофилла у ЧС, Синбх и ИРЛ ЧС/Синбх по хромосомам 2D, 5D и 7D при разных режимах водообеспечения

Параметры	ЧС	Синбх	ИРЛ ЧС/Синбх			
			min	max	max/min	$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$
Нормальное водообеспечение						
листРЛОГ	2.3 ± 0.1	2.0 ± 0.2	0.3 ± 0.0	16.6 ± 1.1	55.3	4.6 ± 0.7
листМЛОГ	0.6 ± 0.1	3.1 ± 0.1**	0.1 ± 0.0	8.9 ± 0.3	63.9	2.3 ± 0.3
хлРЛОГ	0.2 ± 0.0	0.5 ± 0.0*	0.1 ± 0.0	1.1 ± 0.1	18.3	0.7 ± 0.1
хлМЛОГ	0.1 ± 0.0	0.7 ± 0.0**	0.1 ± 0.0	1.8 ± 0.4	22.5	0.4 ± 0.1
МП	4.7 ± 0.2	2.8 ± 0.1*	2.3 ± 0.3	6.8 ± 0.3	3.0	4.6 ± 0.1
Хл а	2.0 ± 0.5	1.0 ± 0.1	1.3 ± 0.1	3.0 ± 0.1	2.4	2.1 ± 0.0
Хл в	0.9 ± 0.0	0.5 ± 0.0**	0.6 ± 0.0	1.3 ± 0.1	2.3	0.9 ± 0.0
Хл а+в	2.9 ± 0.1	1.5 ± 0.1**	1.8 ± 0.1	4.2 ± 0.2	2.3	3.0 ± 0.1
Кар	0.5 ± 0.0	0.3 ± 0.0**	0.3 ± 0.0	0.7 ± 0.0	2.2	0.5 ± 0.1
Хла+в/Кар	5.4 ± 0.1	5.9 ± 0.1*	4.5 ± 0.1	8.0 ± 0.9	1.8	5.7 ± 0.1
СТ	1.2 ± 0.1	0.7 ± 0.1*	0.5 ± 0.0	1.9 ± 0.1	4.0	0.7 ± 0.0
УП	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0*	0.03 ± 0.0	0.2 ± 0.0	7.7	0.1 ± 0.0
СА	14.1 ± 0.6	12.9 ± 0.5	7.7 ± 0.5	44.4 ± 9.4	5.8	17.0 ± 0.8
ЭИВ	12.5 ± 0.9	20.0 ± 1.7	4.8 ± 0.4	35.6 ± 2.9	7.5	15.8 ± 0.8
ЭФКВ(II)	0.6 ± 0.0	0.6 ± 0.0	0.5 ± 0.0	0.7 ± 0.0	1.3	0.6 ± 0.0
СЭТ 160	27.1 ± 0.8	26.0 ± 1.8	19.3 ± 1.4	33.4 ± 0.5	1.7	27.5 ± 0.4
α	0.4 ± 0.0	0.4 ± 0.0	0.2 ± 0.0	0.5 ± 0.0	2.0	0.4 ± 0.0
СЭТ max	43.6 ± 2.1	39.6 ± 6.5	24.4 ± 0.4	77.8 ± 6.6	3.2	50.8 ± 1.4
Lk	106.1 ± 7.3	109.0 ± 28.0	55.3 ± 2.9	281.3 ± 36.8	5.1	145.2 ± 5.6
Водный дефицит						
листРЛОГ	2.6 ± 0.1	4.3 ± 0.2*	0.1 ± 0.0	18.2 ± 0.8	130.0	5.4 ± 0.6
листМЛОГ	0.2 ± 0.0	1.9 ± 0.2**	0.2 ± 0.0	8.5 ± 0.9	42.4	2.9 ± 0.3
хлРЛОГ	0.7 ± 0.1	0.5 ± 0.0	0.1 ± 0.0	8.1 ± 0.9	40.5	1.0 ± 0.2
хлМЛОГ	0.2 ± 0.0	0.6 ± 0.1*	0.1 ± 0.0	3.1 ± 0.6	39.3	0.7 ± 0.1
МП	1.9 ± 0.1	0.8 ± 0.1**	1.1 ± 0.1	2.5 ± 0.1	2.3	1.8 ± 0.0
Хла	2.5 ± 0.1	1.9 ± 0.0*	1.6 ± 0.1	3.4 ± 0.1	2.1	2.4 ± 0.0
Хлв	1.1 ± 0.0	0.9 ± 0.0*	0.6 ± 0.0	1.1 ± 0.0	1.8	1.1 ± 0.0
Хла+в	3.5 ± 0.1	2.8 ± 0.0*	2.4 ± 0.0	4.8 ± 0.1	2.0	3.5 ± 0.1
Кар	0.6 ± 0.0	0.5 ± 0.0	0.3 ± 0.0	0.8 ± 0.0	2.4	0.6 ± 0.0
Хла+в/Кар	6.1 ± 0.1	6.0 ± 0.1	4.7 ± 0.0	8.5 ± 0.1	1.8	6.5 ± 0.1
СТ	0.5 ± 0.0	0.3 ± 0.0	0.3 ± 0.0	1.0 ± 0.1	3.8	0.6 ± 0.0
УП	0.03 ± 0.0	0.02 ± 0.0	0.04 ± 0.0	0.1 ± 0.0	1.5	0.04 ± 0.0
СА	10.6 ± 0.6	8.0 ± 0.6	1.6 ± 0.3	33.1 ± 2.3	20.7	13.4 ± 0.7
ЭИВ	25.1 ± 1.8	27.4 ± 2.0	9.5 ± 0.7	50.4 ± 5.5	5.3	26.3 ± 1.2
ЭФКВ(II)	0.6 ± 0.0	0.6 ± 0.0	0.5 ± 0.0	0.7 ± 0.0	1.3	0.6 ± 0.0
СЭТ 160	29.8 ± 0.7	28.0 ± 0.9	20.8 ± 1.6	34.1 ± 2.0	1.6	28.6 ± 0.3
α	0.4 ± 0.0	0.4 ± 0.0	0.2 ± 0.0	0.4 ± 0.0	1.8	0.3 ± 0.0
СЭТ max	58.1 ± 4.1	51.0 ± 3.5	27.7 ± 5.8	99.6 ± 8.2	3.6	61.8 ± 1.7
Lk	170.0 ± 15.1	150.0 ± 15.2	71.3 ± 14.3	367.2 ± 40.0	5.2	201.7 ± 7.1

Обозначения для таблиц 21, 22: семРЛОГ – активность растворимой формы ЛОГ семян; прРЛОГ – активность растворимой формы ЛОГ проростков; прМЛОГ – активность мембраносвязанной формы проростков; листРЛОГ – активность растворимой формы ЛОГ листьев; листМЛОГ – активность мембраносвязанной формы ЛОГ листьев; хлРЛОГ – активность растворимой формы ЛОГ хлоропластов; хлМЛОГ – активность ЛОГ, связанной с мембранами хлоропластов; МП – масса побега; Хла – содержание хлорофилла а; Хлв – содержание

хлорофилла b; X_{a+b} – содержание общего хлорофилла; Кар – содержание каротиноидов; $X_{a+b}/\text{Кар}$ – отношение содержания общего хлорофилла к содержанию каротиноидов; СТ – скорость транспирации; УП – устьичная проводимость; СА – скорость ассимиляции CO_2 или нетто-фотосинтез; ЭИВ – эффективность использования воды ($\text{СА}/\text{СТ}$); ЭФКВ(II) – эффективный фотохимический квантовый выход ФС II; СЭТ_{160} – скорость электронного транспорта в фотосистеме II при $160 \mu\text{mol photons}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$; α – начальный наклон световой кривой, связанный с максимальным выходом электронного транспорта в условиях ограниченного света; СЭТ_{max} – максимальная скорость электронного транспорта; Lk- интенсивность света, выражающая начало насыщения ФАР.

.Представлены выборочная средняя \pm средняя ошибка выборочной средней ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$) двух независимых экспериментов. Минимальные (min) и максимальные (max) значения параметров в популяции ИЛ представлены как $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$ биологических повторностей.

*, ** - достоверность различий между средними значениями ЧС и Син при $P < 0.05$; 0.01 соответственно.

Значения активности нескольких форм ЛОГ, параметров газообмена и фотосинтеза в листьях ИРЛ пшеницы ЧС/Синбх на стадии кущения в условиях разного водообеспечения представлены в таблице 21. У обоих родителей формы ЛОГ различались по уровню активности. Независимо от условий водного режима наибольшей активностью отличалась листРЛОГ, а наименьшей – хлоропластные формы фермента. При нормальном водообеспечении активность листМЛОГ и обеих хлоропластных форм у Синбх была выше, чем у ЧС. Однако ЧС превосходил Синбх по МП, содержанию фотосинтетических пигментов, скорости транспирации (СТ), устьичной проводимости (УП), уступая только по отношению хлорофиллов к каротиноидам ($X_{a+b}/\text{Кар}$). В условиях водного стресса по активности листРЛОГ и обеих мембранных форм фермента Синбх значительно превосходил ЧС. По МП, содержанию хлорофиллов и ДС Синбх уступал ЧС. Среди ИРЛ по всем параметрам наблюдалась высокая вариабельность значений независимо от водного режима. Наибольший размах значений был обнаружен по активности ЛОГ, а наименьший – по эффективности квантового выхода фотосистемы II (ФС II) (ЭФКВ(II)).

По данным табл. 22 у обоих родителей ИУ% параметров МЛОГ листьев, МП, СТ, УП, СА (скорость ассимиляции углерода), α (начальный наклон световой кривой, связанный с максимальным выходом электронного транспорта в условиях ограниченного света), ДС, ККК, МЗК были ниже 100%. ИУ% параметров листРЛОГ, хлРЛОГ, содержания хлорофиллов, каротиноидов и их отношения, а также ЭИВ (эффективность использования воды), СЭТ (скорость электронного транспорта) и Lk (интенсивность света, выражающая начало насыщения фотосинтетически активной радиацией (ФАР)) были выше 100%. ЧС и Син показали значимые различия по ИУ% ЭИВ. Среди ИРЛ по ИУ% параметров наблюдался большой размах значений с отношением max/min от 1,6 для ЭФКВ(II) до 489,7 для листМЛОГ.

Таблица 22. Индексы устойчивости параметров у ЧС, Синбх и ИРЛ ЧС/Синбх по хромосомам 2D, 5D и 7D

ИУ	ЧС	Синбх	ИРЛ ЧС/Синбх			
			min	max	max/min	$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$
листРЛОГ	118.7	203.5	13.3	4545.0	341.7	281.0 ± 111.7
листМЛОГ	33.4	61.1	3.2	1567.1	489.7	317.8 ± 64.3
хлРЛОГ	303.9	107.8**	13.6	1570.0	115.4	184.5 ± 39.6
хлМЛОГ	230.1	95.5*	23.4	511.0	21.8	152.1 ± 21.5
МП	41.2	33.4	21.7	112.0	5.2	47.7 ± 2.5
Хл а	124.0	198.3	83.6	182.7	2.2	122.2 ± 3.4
Хл в	123.4	191.9	86.6	217.5	2.5	127.5 ± 3.5
Хл а+в	123.6	195.6	84.5	221.8	2.6	125.9 ± 3.9
Кар	109.1	187.0	81.1	150.1	1.9	110.3 ± 2.8
Хла+в/Кар	114.6	105.2	85.7	159.8	1.9	116.0 ± 1.9
СТ	37.9	42.2	19.6	110.1	5.6	48.9 ± 2.8
УП	29.2	40.0	12.2	125.0	10.3	43.3 ± 3.4
СА	76.2	62.2	21.2	147.5	7.0	80.8 ± 3.7
ЭИВ	201.6	137.2*	65.6	359.8	5.5	186.5 ± 9.4
ЭФКВ(II)	103.8	94.3	85.4	140.3	1.6	100.9 ± 1.4
СЭТ 160	109.8	116.8	73.2	150.3	2.1	105.6 ± 2.1
α	88.1	94.2	64.8	125.8	1.9	89.6 ± 1.9
СЭТ max	133.5	144.7	60.9	210.7	3.5	137.0 ± 6.0
Lk	153.5	161.2	55.5	357.0	6.4	168.3 ± 9.8

Обозначения параметров как в табл. 21. Представлены средние значения двух независимых экспериментов.

*, ** – достоверность различий между средними значениями ЧС и Синбх.

Таким образом, наши данные свидетельствуют о том, что формы ЛОГ различались у ЧС и Синбх конституционным уровнем ферментативной активности, а также характером его изменения при водном дефиците. В условиях водного стресса активность большинства форм ЛОГ увеличивалась или оставалась на том же уровне, кроме активности листМЛОГ, которая значительно уменьшалась у обоих родительских генотипов. Родители различались по уровню активности отдельных форм фермента, содержанию фотосинтетических пигментов, параметрам газообмена при нормальном и (или) недостаточном водообеспечении, а также по ИУ% параметра ЭИВ. ИУ% активности хлоропластных форм ЛОГ были выше у ЧС, в то время как по ИУ% растворимых и мембранных форм ЛОГ листьев Синбх превосходил ЧС. У ИРЛ проявлялась тенденция одного из родителей, независимо по каждой из изученных форм ЛОГ, что наглядно видно на примере ИРЛ по хромосоме 2D (рис. 50 – 52).

3.3.2.3. Активность растворимой липоксигеназы в листьях и другие физиологические параметры у рекомбинантных замещённых дигаплоидных линий пшеницы Саратовская 29/Янецкис Пробат по хромосоме 2А в условиях разного водообеспечения.

Рекомбинантные замещённые дигаплоидные линии пшеницы Саратовская 29/Янецкис Пробат по хромосоме 2А (РЗДЛ С29/ЯП2А) созданы в ИЦиГ СО РАН, изучены по признакам развития и зерновой продуктивности и генотипированы SNP-маркерами для тонкого картирования признаков, так как содержат очень небольшие участки рекомбинации. Нами было проведено фенотипирование 92 РЗДЛ С29/ЯП2А и родительских генотипов, выращенных в контрастных условиях водообеспечения, по биомассе надземной части побега, активности растворимой ЛОГ, содержанию фотосинтетических пигментов, параметрам газообмена и флуоресценции хлорофилла в листьях (табл. 23).

Родители РЗДЛ С29/ЯП2А обнаружили статистические значимые различия при оптимальном поливе по активности ЛОГ и массе побега, а в условиях засухи только по активности ЛОГ. У ЯП ферментативная активность была ниже, чем у С29 в обоих условиях водного режима. Оба родителя увеличивали активность ЛОГ под влиянием засухи (таблица 24), однако у ЯП это увеличение было больше. Кроме активности ЛОГ, под воздействием засухи у обоих родителей увеличивался газообмен и уменьшалась ЭИВ, незначительно увеличивались или оставались на том же уровне содержание фотосинтетических пигментов и их отношение, а также параметры флуоресценции хлорофилла: максимальная (потенциальная) квантовая эффективность ФС II (F_v/F_m), ЭФКВ(II) и СЭГ.

Различия между родителями были обнаружены по фоновой флуоресценции хлорофилла в темноте (F_o) и нефотохимическому тушению флуоресценции хлорофилла (NPQ). Под влиянием засухи фоновая флуоресценция в темноте у С29 снижалась, а у ЯП – увеличивалась. Нефотохимическое тушение хлорофилла, напротив, у ЯП снижалось, а у С29 увеличивалось. Эти результаты свидетельствуют о различии в стратегиях адаптации к засухе у родительских сортов, связанном с различиями в нефотохимическом тушении хлорофилла и уровне активности ЛОГ, но не проявляющееся в статистически значимом различии по другим признакам при данных условиях эксперимента.

Таблица 23. Значения активности растворимой ЛОГ и антиоксидантных ферментов, биомассы побега, содержания фотосинтетических пигментов, параметров газообмена и флюоресценции хлорофилла у С29, ЯП и РЗДЛ С29/ЯП2А при разных режимах водообеспечения

Признаки	Родители		РЗДЛ	
	С29	ЯП	Ср. ± ст. откл	Размах изменчивости
Оптимальный полив				
ЛОГ	16.4 ± 3.5	11.0 ± 3.4***	15.5 ± 5.6	4.0 – 30.3
СОД	50.1 ± 8.8	45.9 ± 6.1	49.4 ± 6.7	29.5 – 98.6
ДГАР	1.4 ± 0.2	1.3 ± 0.3	1.1 ± 0.4	0.4 – 2.2
ГР	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.1 – 0.5
Масса побега	5.0 ± 0.2	6.2 ± 0.5*	4.4 ± 0.5	3.5 – 5.4
Хлорофилл _а	2.0 ± 0.1	1.9 ± 0.1	1.9 ± 0.4	1.3 – 2.9
Хлорофилл _б	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.1	0.9 ± 0.2	0.6 – 1.3
Хл _{а+б}	3.1 ± 0.1	2.9 ± 0.1	2.8 ± 0.5	1.2 – 4.1
Каротиноиды	0.4 ± 0.0	0.4 ± 0.0	0.4 ± 0.1	0.3 – 0.6
Хл _{а+б} /Кар	7.6 ± 0.4	7.5 ± 0.3	7.1 ± 0.8	5.7 – 9.8
СТ	0.4 ± 0.1	0.5 ± 0.2	0.5 ± 0.3	0.1 – 1.2
УП	25.7 ± 11.2	32.8 ± 13.1	38.6 ± 20.4	6.4 – 94.0
СА	1.9 ± 0.6	2.0 ± 0.2	2.3 ± 0.8	0.6 – 4.21
ЭИВ	5.8 ± 0.9	4.9 ± 1.6	5.2 ± 1.3	2.7 – 8.5
F _o	104.5 ± 24.4	77.2 ± 1.2	95.3 ± 20.5	63.3 – 184.3
F _v /F _m	0.7 ± 0.1	0.8 ± 0.0	0.7 ± 0.1	0.5 – 0.7
ЭФКВ(II)	0.5 ± 0.1	0.5 ± 0.0	0.5 ± 0.1	0.3 – 0.6
СЭТ	33.5 ± 4.0	35.1 ± 0.6	33.0 ± 4.2	16.3 – 39.8
NRQ	0.3 ± 0.1	0.5 ± 0.0	0.4 ± 0.1	0.2 – 0.7
Водный дефицит				
ЛОГ	21.6 ± 3.8	16.9 ± 3.8***	17.1 ± 6.5	4.7 – 33.3
СОД	50.5 ± 3.0	50.9 ± 2.2	51.8 ± 6.0	32.8 – 72.7
ДГАР	0.7 ± 0.1	0.6 ± 0.1	1.2 ± 0.4	0.5-2.3
ГР	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.1 – 0.7
Масса побега	2.7 ± 0.4	3.3 ± 0.4	2.7 ± 0.3	2.2 – 3.5
Хлорофилл _а	2.3 ± 0.4	1.9 ± 0.4	2.2 ± 0.3	1.5 -3.2
Хлорофилл _б	1.1 ± 0.3	1.0 ± 0.2	1.0 ± 0.2	0.7 – 1.4
Хл _{а+б}	3.4 ± 0.6	2.9 ± 0.6	3.3 ± 0.5	2.2 – 4.5
Каротиноиды	0.5 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.2 – 0.6
Хл _{а+б} /Кар	8.1 ± 3.7	8.0 ± 1.6	7.8 ± 0.9	6.2 – 11.5
СТ	0.6 ± 0.1	0.6 ± 0.0	0.6 ± 0.3	0.1 – 1.4
УП	39.6 ± 9.3	44.2 ± 2.8	45.4 ± 20.1	10.1 – 108.0
СА	2.6 ± 0.3	2.4 ± 0.2	2.8 ± 0.7	1.4 – 4.6
ЭИВ	5.6 ± 1.9	4.2 ± 0.2	5.5 ± 1.3	2.3 – 11.9
F _o	78.5 ± 7.5	83.3 ± 2.0	75.6 ± 9.3	57.3 – 105.2
F _v /F _m	0.8 ± 0.0	0.8 ± 0.0	0.8 ± 0.0	0.7 – 0.8
ЭФКВ(II)	0.5 ± 0.0	0.5 ± 0.0	0.5 ± 0.0	0.5 – 0.6
СЭТ	35.6 ± 1.2	34.4 ± 2.8	35.6 ± 1.8	30.8 – 39.3
NRQ	0.4 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.2 – 0.7

Обозначения для таблиц 23, 24: ЛОГ – активность липоксигеназы; СОД – активность супероксиддисмутазы; ДГАР – активность дигидроаскорбатредуктазы; ГР – глутатион редуктаза; Хл_{а+б} – содержание общего хлорофилла;

$X_{a+b}/\text{Кар}$ – отношение содержания общего хлорофилла к содержанию каротиноидов; СТ – скорость транспирации; УП – устьичная проводимость; СА – скорость ассимиляции CO_2 или нетто-фотосинтез; F_0 – фоновая флуоресценция хлорофилла в темноте, измеряемая при низкой интенсивности измерительного света, для сохранения открытым реакционных центров ФС II; Fv/Fm – максимальная (потенциальная) квантовая эффективность ФС II; ЭИВ – эффективность использования воды (СА/СТ); ЭФКВ(II) – эффективный фотохимический квантовый выход ФС II; СЭТ – скорость электронного транспорта; NPQ – нефотохимическое тушение флуоресценции.

Представлены средние значения восьми биологических повторностей для родителей, двух биологических повторностей для РЗДЛ \pm стандартное отклонение.

*, ** – достоверность различий между средними значениями С29 и ЯП при $P < 0.05$; 0.01 соответственно.

Таблица 24. Индексы устойчивости параметров у С29, ЯП и РЗДЛ С29/ЯП2А

Признаки	Родители		РЗДЛ С29/ЯП2А	
	С29	ЯП	Ср. значение \pm ст. отклонение	Размах изменчивости
ЛОГ	131.7	152.6*	164.0 \pm 92.6	30 – 457
СОД	101.2	115.9	94.8 \pm 14.7	51 – 137
ДГАР	51.0	47.2	125.2 \pm 59.2	37 – 354
ГР	150.0	185.0	131.0 \pm 60.0	15 – 346
Масса побега	52.9	54.1	61.7 \pm 8.3	49 – 88
Хлорофилл _a	115.2	101.3	122.8 \pm 28.8	70 – 232
Хлорофилл _b	106.3	109.0	117.8 \pm 25.3	73 – 188
X_{a+b}	111.8	103.5	120.7 \pm 26.0	71 – 208
Каротиноиды	109.6	97.3	109.8 \pm 24.0	65 – 178
$X_{a+b}/\text{Кар}$	107.8	111.6	110.6 \pm 15.3	84 – 144
СТ	159.2	145.4	156.8 \pm 133.3	20 – 710
УП	167.3	144.2	163.8 \pm 149.1	15 – 564
СА	147.3	116.2	142.1 \pm 90.0	44 – 566
ЭИВ	95.3	88.2	112.6 \pm 51.0	40 – 306
F_0	77.5	107.9*	82.0 \pm 15.7	47 – 121
Fv/Fm	108.9	100.6	108.1 \pm 10.9	92 – 146
ЭФКВ(II)	107.3	97.1	109.9 \pm 18.0	82 – 208
СЭТ	106.9	98.1	109.9 \pm 18.2	82 – 211
NPQ	118.5	77.1***	104.8 \pm 38.1	34 – 221

Обозначения параметров как в таблице 23.

Ряд признаков, связанных с развитием и продуктивностью были изучены у растений пшеницы РЗДЛ С29(ЯП 2А), выращенных в гидропонной оранжерее или на экспериментальных полях ИЦиГ СО РАН. Среди РЗДЛ С29/ЯП2А была обнаружена значительная изменчивость по всем изученным признакам (табл. 25), что, позволило в дальнейшем картировать эти признаки на хромосоме 2А (глава 3.5.3.).

Таблица 25. Вариабельность параметров развития и зерновой продуктивности у РЗДЛ С29/ЯП 2А в контрастных условиях полива

Признаки	Оптимальный полив		Водный дефицит	
	Размах изменчивости	Ср. значение \pm ст. отклонение	Размах изменчивости	Ср. значение \pm ст. отклонение
ДК	17.5 – 23.2	19.0 \pm 0.9	18.1 – 25.3	21.6 \pm 1.4
ДЦ	38.9 – 44.7	41.2 \pm 1.1	38.5 – 44.0	41.2 \pm 1.3
ДВС	57.9 – 71.6	66.2 \pm 2.1	58.7 – 72.4	65.9 \pm 3.2
ДС	76.5 – 96.3	87.8 \pm 3.6	75.4 – 91.8	83.2 \pm 3.5
ККК	12.4 – 15.1	13.8 \pm 0.6	12.5 – 15.5	13.9 \pm 0.7
КЗК	22.3 – 33.6	28.8 \pm 2.3	23.0 – 33.0	28.1 \pm 2.2
МЗК	0.9 – 1.5	1.1 \pm 0.1	0.6 – 1.1	0.8 \pm 0,1
Озерненность	0.9 – 1.7	1.5 \pm 0.1	1.6 – 2.4	2.0 \pm 0.2
ЧЗВ	62.2 – 139.1	97.9 \pm 16.7	22.9 – 75.3	52.1 \pm 10.6
ВЗВ	2.0 – 5.0	3.4 \pm 0.7	0.6 – 2.7	1.2 \pm 0.3
ЧЗР	73.3 - 154.6	113.5 \pm 17.7	15.0 – 39.4	27.9 \pm 5.0
ВЗР	2.9 – 6.4	4.6 \pm 0.8	28.2 – 76.0	53.4 \pm 9.8
М1000	32.8 – 44.5	39.4 \pm 2.4	21.3 – 38.7	28.1 \pm 4.2

ДК – Число дней до кушения; ДЦ – Число дней до цветения; ДВС – Число дней до восковой спелости; ДС – Длина стебля; ДК – Длина колоса; ККК – Количество колосков в главном колосе; КЗК – Количество зерен в главном колосе; МЗК – Масса зерна в колосе; ЧЗВ – Число зерен вторичных колосьев; ВЗВ – Вес зерна вторичных колосьев; ЧЗР – Число зёрен с растения; ВЗР – Вес зерна с растения; М1000з – Масса 1000 зерен.

Таблица 26. Главные компоненты вклада изученных признаков в разнообразие среди ЗРДЛ в контрастных условиях полива

Глав-ные компо-ненты	Оптимальный полив		Водный дефицит	
	Вклад в общее разнообразие, %	Доля разнообразия определённых признаков в ГЛК	Вклад в общее разнообразие, %	Доля разнообразия определённых признаков в ГЛК
ГлК1	43.1	УП (-0.92); ЛОГ (0.22); ДК (0.22); ЭИВ (0.11)	37,1	ЛОГ (0.95); М1000 (-0.17); УП (-0.13); КЗК (-0.12); ДК (-0.11)
ГлК2	17.2	ЛОГ (0.66); СЭТ (0.51); F ₀ (-0.34); УП (0.27); ДК (0.26)	22,7	ДК (0.65); УП (0.41); ВЗР (0.33); М1000 (0.25); ЧЗВ (-0.22); ЧЗР (-0.20); КЗК (0.18); ЛОГ (0.16); ЭИВ (0.13)
ГлК3	16.1	ДК (0.65); ЧЗВ (-0.35); ЧЗР (-0.31); ЛОГ (-0.28); КЗК (-0.20); F ₀ (0.16); СОД (0.14); УП (0.16); ККК (0.13); МП (0.10); ДЦ (0.10)	21,9	УП (-0.60); ВЗР (0.50); ЧЗВ (0.29); ДК (0.22); КЗК (0.14); ЛОГ (0.18); ЭИВ (0.10)
ГлК4	10.4	ЛОГ (-0.65); СЭТ (0.54); КЗК (0.27); ЧЗВ (0.12); ЧЗР (0.12)	-	-

Приведены признаки, чья доля составила не менее 0,10. ЛОГ – Уровень активности липоксигеназы; СОД – Уровень активности супероксиддисмутазы; УП – Устьичная проводимость; ЭИВ – Эффективность использования воды; СЭТ – Скорость электронного транспорта; F₀ – фоновая флуоресценция хлорофилла в

темноте, измеряемая при низкой интенсивности измерительного света, для сохранения открытым реакционных центров ФС II; МП – Масса побега; ДК – Число дней до кушения; ДЦ – Число дней до цветения; ККК – Количество колосков в главном колосе; КЗК – Количество зёрен в главном колосе; ВЗВ – Вес зерна вторичных колосьев; ЧЗР – Число зёрен с растения; ВЗР – Вес зерна с растения; М1000 – Масса 1000 зёрен.

Анализ методом главных компонент (ГлК) показал высокий вклад в разнообразие среди ЗРДЛ признака Активность ЛОГ, независимо от условий водообеспечения (от 0.16 до 0.95) во всех четырех ГлК (табл. 26). Доля разнообразия признака Активность ЛОГ в ГлК2 и ГлК3 уменьшалась в условиях засухи. Доля разнообразия активности ЛОГ в ГлК1, которая имела наибольший вклад в общее разнообразие, увеличивалась при водном дефиците, составляя максимальное значение (0.95%).

3.3.2.4. Взаимосвязь между активностью разных форм липоксигеназы листьев и физиологическими параметрами при благоприятных условиях и водном дефиците

Как показано в таблице 27, у ИРЛ ЧС/Синбх параметр МП при оптимальном водном режиме был положительно связан с Кар и ЭИВ, а при недостаточном водообеспечении – положительно с содержанием фотосинтетических пигментов, параметрами СТ, УП, СЭТ и Lk. Независимо от водного режима содержание всех пигментов было тесно связано между собой, а также с СЭТ, α и Lk, однако с параметрами газообмена оно показало положительную корреляцию только в условиях засухи. Параметры газообмена СТ, УП и ЭИВ тоже были взаимосвязаны независимо от водного режима, но связь СТ и УП с ЭФКВ(II), СЭТ и Lk проявилась лишь в условиях водного дефицита. При любом водном режиме оба параметра СЭТ были положительно связаны между собой и с Lk и отрицательно с параметром α .

Между ферментативной активностью разных форм ЛОГ было обнаружено немного значимых корреляционных связей. Была найдена положительная корреляция между растворимой и мембранной формами ЛОГ листьев в условиях водного стресса, а также между двумя мембранными формами, как при оптимальном, так и при недостаточном водообеспечении. Наибольшее число достоверных корреляций обнаружила активность листРЛОГ. Независимо от условий выращивания растений, она была положительно связана с СТ и УП, содержанием хлорофиллов и СЭТ. Однако характер ее корреляций с МП и Кар зависел от водного режима: при нормальном водообеспечении корреляция была отрицательной, а при недостаточном – положительной.

Активность листМЛОГ при нормальном водном режиме показала достоверную положительную корреляцию только с СА и ЭИВ. Знак корреляций с данными параметрами

при нормальном водном режиме отличался у листРЛОГ и листМЛОГ, однако в условиях водodefицита эти две формы ЛОГ показали сходный характер корреляций с МП, содержанием пигментов и СЭТ. В отличие от листРЛОГ и листМЛОГ, активность хлРЛОГ показала отрицательные корреляции с МП, с отношением $X_{\text{лa+b}}/\text{Кар}$ и СЭТ в условиях водodefицита. Активность мембранной ЛОГ хлоропластов показала схожие корреляционные тенденции, но, в отличие от хлРЛОГ, независимо от водного режима, она имела положительные корреляции с содержанием всех пигментов фотосинтеза.

Обе хлоропластные формы фермента, в отличие от листРЛОГ и листМЛОГ, отрицательно коррелировали с МП в условиях засухи (табл. 15) и, в конечном счете, при созревании растений, как было определено для одной из них, хлРЛОГ, с зерновой продуктивностью. При водном дефиците активность хлРЛОГ у ИРЛ ЧС/Синбх была отрицательно связана с ДС и компонентами урожая зерна ККК и МЗК ($r = -0.51, -0.61$ и -0.46 соответственно). Активность листМЛОГ в условиях засухи обнаружила положительную корреляцию с МЗК ($r = 0.48$).

Корреляционный анализ между физиологическими параметрами в пшеничной популяции РЗДЛ С29/ЯП2А (табл. 27, 28) подтвердил тенденции их взаимосвязей, выявленные у ИРЛ ЧС/Синбх и выявил взаимосвязи неизученных ранее параметров (F_0 , F_v/F_m , NPQ).

МП показала невысокую положительную связь с содержанием каротиноидов и отрицательную с отношением хлорофиллов к каротиноидам (табл. 27). Взаимосвязь с первым признаком проявилась при нормальном водообеспечении, а со вторым – в условиях засухи. МП была связана положительно с эффективным фотохимическим квантовым выходом ФС II и скоростью электронного транспорта, независимо от условий выращивания, и отрицательно с потенциальной квантовой эффективностью ФС II и нефотохимическим тушением.

Таблица 27. Корреляционные взаимосвязи между активностью разных форм ЛОГ листьев, биомассой побега, содержанием фотосинтетических пигментов, параметрами газообмена и флуоресценции хлорофилла у ИРЛ ЧС/Синбх при разных режимах водообеспечения

	лМЛОГ	лМЛОГ	хл	хл	МП	Хл _а	Хл _б	Хл _{а+б}	Кар	Хл _{а+б} /Кар	СТ	УП	СА	ЭИВ	ЭФКВ (II)	СЭТ ₁₆₀	α	СЭТ _{max}	
	лРЛОГ	Х	РЛОГ	МЛОГ															
Нормальное водообеспечение																			
лМЛОГ	0.004																		
хлРЛОГ	0.01	0.16																	
хлМЛОГ	0.09	0.34**	0.08																
МП	-0.26*	0.12	-0.04	0.24*															
Хл _а	0.25*	0.01	0.06	0.32**	0.15														
Хл _б	0.29*	-0.01	0.06	0.32**	0.21	0.94***													
Хл _{а+б}	0.27*	0.00	0.06	0.33**	0.17	0.99***	0.97***												
Кар	-0.16	0.00	0.27*	0.45**	0.27*	0.75***	0.69***	0.74***											
Хл _{а+б} /Кар	0.56***	0.02	-0.30*	-0.32**	-0.18	0.17	0.23	0.20	-0.50**										
СТ	0.23	0.01	-0.03	-0.31**	-0.23	0.06	-0.01	0.03	-0.16	0.22									
УП	0.26*	-0.02	-0.07	-0.26*	-0.18	0.06	0.02	0.05	-0.20	0.28*	0.95***								
СА	-0.16	0.31**	0.24*	0.02	0.23	0.01	0.04	0.03	0.18	-0.21	0.13	0.16							
ЭИВ	-0.26*	0.29*	0.24*	0.14	0.31**	-0.11	-0.03	-0.08	0.15	-0.28*	-0.46**	-0.37**	0.76***						
ЭФКВ(II)	-0.18	-0.11	0.09	0.03	0.14	0.13	0.13	0.13	0.39**	-0.49**	-0.02	-0.06	0.11	0.07					
СЭТ ₁₆₀	0.51**	0.05	-0.14	-0.21	0.11	0.27*	0.33**	0.30*	-0.24*	0.73***	0.08	0.12	-0.10	-0.12	-0.23				
α	-0.01	0.14	-0.07	0.03	-0.11	-0.29*	-0.28*	-0.29*	-0.02	-0.33**	-0.14	-0.19	-0.09	-0.03	-0.02	-0.41**			
СЭТ _{max}	0.38**	-0.06	-0.12	-0.25*	0.12	0.39**	0.42**	0.41**	-0.14	0.69***	0.13	0.17	-0.09	-0.16	-0.08	0.87***	-0.62***		
Lk	0.29*	-0.14	-0.08	-0.20	0.15	0.40**	0.42**	0.42**	-0.07	0.60***	0.12	0.17	-0.08	-0.15	-0.03	0.76***	-0.71***	0.97***	
Водный дефицит																			
лМЛОГ	0.27*																		
хлРЛОГ	-0.14	0.00																	
хлМЛОГ	0.09	0.40**	-0.01																
МП	0.54**	0.24*	-0.22	-0.12															
Хл _а	0.30*	0.17	0.00	0.30*	0.54**														
Хл _б	0.21	0.24*	0.00	0.34**	0.41**	0.87***													
Хл _{а+б}	0.28*	0.19	-0.00	0.32**	0.52**	0.99***	0.93***												
Кар	0.27*	0.24*	0.14	0.29*	0.45**	0.90***	0.70***	0.86***											
Хл _{а+б} /Кар	-0.13	-0.17	-0.22	-0.08	-0.12	-0.19	0.07	-0.12	-0.58***										
СТ	0.41**	0.17	-0.06	0.15	0.58***	0.48**	0.26*	0.43**	0.45**	-0.21									
УП	0.44**	0.18	-0.09	0.09	0.62***	0.50**	0.29*	0.46**	0.48**	-0.21	0.98***								
СА	0.00	-0.05	0.06	-0.11	0.01	0.27*	0.17	0.25*	0.36**	-0.32**	0.32**	0.30*							
ЭИВ	-0.19	-0.05	0.05	-0.19	-0.28*	0.01	0.03	0.02	0.13	-0.25*	-0.29*	-0.29*	0.76***						
ЭФКВ(II)	-0.28*	0.05	-0.08	0.17	-0.15	-0.02	0.05	0.00	0.03	-0.07	-0.15	-0.14	-0.05	0.03					
СЭТ ₁₆₀	0.41**	0.26*	-0.25*	-0.08	0.58***	0.44**	0.26*	0.40**	0.38**	-0.18	0.26*	0.32**	0.04	-0.01	0.01				
α	-0.17	0.05	-0.03	0.22	-0.23	-0.18	-0.08	-0.15	-0.08	-0.10	-0.19	-0.19	0.13	0.21	-0.14	-0.30*			
СЭТ _{max}	0.54**	0.15	-0.22	-0.16	0.57***	0.42**	0.25*	0.38**	0.34**	-0.09	0.46**	0.52**	0.02	-0.16	0.001	0.74***	-0.54**		
Lk	0.40**	0.15	-0.09	-0.09	0.54**	0.53**	0.39**	0.50**	0.43**	-0.02	0.39**	0.43**	0.03	-0.13	0.06	0.66***	-0.72***	0.84***	

семРЛОГ – активность растворимой формы ЛОГ семян; прРЛОГ – активность растворимой формы ЛОГ проростков; прМЛОГ – активность мембраносвязанной формы проростков; листРЛОГ – активность растворимой формы ЛОГ листьев; листМЛОГ – активность мембраносвязанной формы ЛОГ листьев; хлРЛОГ – активность растворимой формы ЛОГ хлоропластов; хлМЛОГ – активность ЛОГ, связанной с мембранами хлоропластов; МП – масса побега; X_{L_a} – содержание хлорофилла а; X_{L_b} – содержание хлорофилла b; $X_{L_{a+b}}$ – содержание общего хлорофилла; Кар – содержание каротиноидов; $X_{L_{a+b}}/Кар$ – отношение содержания общего хлорофилла к содержанию каротиноидов; СТ – скорость транспирации; УП – устьичная проводимость; СА – скорость ассимиляции CO_2 или нетто-фотосинтез; ЭИВ – эффективность использования воды (СА/СТ); ЭФКВ(II) – эффективный фотохимический квантовый выход ФС II; $СЭТ_{160}$ – скорость электронного транспорта в фотосистеме II при $160 \mu mol photons/(m^2 \cdot s)$; α - начальный наклон световой кривой, связанный с максимальным выходом электронного транспорта в условиях ограниченного света; $СЭТ_{max}$ – максимальная скорость электронного транспорта; Lk- интенсивность света, выражающая начало насыщения ФАР.

*, **, *** - значимо при $P < 0.05; 0.01; 0.001$ соответственно; $n = 65$.

Таблица 28. Корреляционные взаимосвязи между активностью растворимой ЛОГ и физиологическими параметрами в листьях РЗДЛ С29/ЯП2А при разных режимах водообеспечения

	ЛОГ	МП	Хл _a	Хл _b	Хл _{a+b}	Кар	Хл _{a+b} / Кар	СТ	УП	СА	ЭИВ	F _o	Fv/Fm	ЭФКВ(II)	СЭТ
Нормальное водообеспечение															
МП	0.15														
Хл _a	0.18	0.17													
Хл _b	0.28**	0.11	0.86***												
Хл _{a+b}	0.21*	0.15	0.99***	0.93***											
Кар	0.13	0.23*	0.82***	0.69***	0.81***										
Хл _{a+b} /Кар	0.15	-0.19	0.21*	0.39***	0.27**	-0.32**									
СТ	-0.13	0.04	0.11	0.04	0.09	0.05	0.04								
УП	-0.14	0.05	0.10	0.03	0.08	0.04	0.03	1.0***							
СА	-0.04	0.15	0.11	-0.01	0.07	0.04	0.04	0.85***	0.85***						
ЭИВ	0.12	0.03	-0.05	-0.09	-0.06	-0.05	0.01	-0.74***	-0.73***	-0.39***					
F _o	-0.23*	-0.08	-0.28**	-0.27**	-0.29**	-0.08	-0.39**	-0.04	-0.03	-0.17	-0.10				
Fv/Fm	0.21*	0.08	0.21*	0.18	0.21*	-0.01	0.42***	0.06	0.05	0.21*	0.19	-0.89***			
ЭФКВ(II)	0.24*	0.23*	0.39***	0.31**	0.38***	0.22*	0.28**	0.18	0.17	0.35**	0.12	-0.79***	0.82***		
СЭТ	0.24*	0.23*	0.40***	0.31**	0.38***	0.23*	0.28**	0.18	0.17	0.36**	0.12	-0.79***	0.82***	1.00***	
NRQ	0.02	0.03	-0.25*	-0.23*	-0.25*	-0.26*	0.03	0.02	0.03	0.08	0.10	-0.13	0.32**	-0.12	-0.01
Водный дефицит															
МП	0.29**														
Хл _a	-0.23**	0.06													
Хл _b	-0.37**	-0.09	0.73***												
Хл _{a+b}	-0.29**	0.01	0.97***	0.73***											
Кар	-0.12	0.15	0.84***	0.59***	0.81***										
Хл _{a+b} /Кар	-0.23*	-0.27**	-0.11	0.23*	0.00	-0.57***									
СТ	-0.13	0.04	0.11	0.04	0.09	0.05	0.04								
УП	-0.14	0.05	0.10	0.03	0.08	0.04	0.03	1.00***							
СА	-0.04	0.15	0.11	-0.01	0.07	0.04	0.04	0.85***	0.85***						
ЭИВ	0.12	0.03	-0.05	-0.09	-0.06	-0.05	0.01	-0.74***	-0.73***	-0.39**					
F _o	0.48***	0.17	-0.42***	-0.49***	-0.47***	-0.30**	-0.19	-0.04	-0.03	-0.17	-0.10				
Fv/Fm	-0.41***	-0.48***	0.26*	0.36**	0.31**	0.02	0.44***	0.06	0.05	0.21*	0.21*	-0.69***			
ЭФКВ(II)	0.12	0.36**	0.17	-0.06	0.10	0.12	-0.13	0.18	0.17	0.35**	0.12	-0.03	-0.11		
СЭТ	0.11	0.36**	0.17	-0.06	0.11	0.12	-0.13	0.18	0.17	0.36**	0.12	-0.04	-0.11	1.00***	
NRQ	-0.21*	-0.39***	-0.05	0.18	0.02	-0.06	0.18	0.02	0.03	0.08	0.10	-0.21*	0.31**	-0.79***	-0.79***

Обозначения для таблиц 28, 29:

МП - масса побега; Хл_а – содержание хлорофилла а; Хл_б – содержание хлорофилла b; Хл_{а+б} – содержание общего хлорофилла; Кар – содержание каротиноидов; Хл_{а+б}/Кар – отношение содержания общего хлорофилла к содержанию каротиноидов; СТ- скорость транспирации; УП – устьичная проводимость; СА – скорость ассимиляции CO₂ или нетто-фотосинтез; ЭИВ – эффективность использования воды (СА/СТ); F_o – фоновая флуоресценция хлорофилла в темноте, измеряемая при низкой интенсивности света, для сохранения открытыми реакционных центров ФС II; Fv/Fm – максимальная (потенциальная) квантовая эффективность ФС II; ЭФКВ(II)- эффективный фотохимический квантовый выход ФС II; СЭТ - скорость электронного транспорта; NPQ – нефотохимическое тушение флуоресценции.

*, **, *** - значимо при P < 0.05; 0.01; 0.001 соответственно; n =94.

Таблица 29. Корреляционные взаимосвязи между индексами устойчивости по активности растворимой ЛОГ и физиологическим параметрам в листьях РЗДЛ С29/ЯП2А

	ЛОГ	МП	Хл _а	Хл _б	Хл _{а+б}	Кар	Хл _{а+б} / Кар	СТ	УП	СА	ЭИВ	F _o	Fv/Fm	ЭФКВ(II)	СЭТ
МП	0.20*														
Хл _а	0.13	0.14													
Хл _б	0.09	0.04	0.78***												
Хл _{а+б}	0.12	0.11	0.98***	0.89***											
Кар	0.14	0.23*	0.82***	0.63***	0.80***										
Хл _{а+б} /Кар	-0.03	-0.22*	0.24*	0.39***	0.30**	-0.31**									
СТ	0.13	-0.12	0.16	0.09	0.14	0.08	0.04								
УП	0.14	-0.12	0.17	0.09	0.15	0.09	0.04	1.00***							
СА	0.28**	-0.05	0.28**	0.18	0.25*	0.13	0.14	0.85***	0.85***						
ЭИВ	0.30**	0.28**	0.13	0.02	0.10	0.11	0.02	-0.54***	-0.53***	-0.27**					
F _o	-0.02	-0.18	-0.22*	-0.15	-0.20*	-0.23*	0.02	-0.14	-0.15	-0.19	0.10				
Fv/Fm	0.11	0.06	0.33**	0.25**	0.32**	0.18	0.23*	0.21*	0.21*	0.45***	-0.01	-0.76***			
ЭФКВ(II)	0.20*	0.27**	0.42***	0.30**	0.40***	0.28**	0.16	0.31**	0.31**	0.56***	0.07	-0.55***	0.77***		
СЭТ	0.27**	0.27**	0.42***	0.30**	0.40***	0.27**	0.16	0.31**	0.31**	0.56***	0.07	-0.54***	0.77***	1.0***	
NPQ	-0.18	-0.24*	0.03	0.09	0.05	-0.06	0.17	0.06	0.05	0.16	-0.14	-0.23*	0.39***	-0.04	0.04

Таблица 30. Корреляционные связи активности растворимой ЛОГ в листьях пшеницы РЗДЛ С29/ЯП2А с фенологическими характеристиками и зерновой продуктивностью

Параметры	Активность рЛОГ		
	Контроль	Засуха	ИУ%
Число дней до цветения	0.03	0.41***	0.36***
Число дней до восковой спелости	0.02	0.31**	0.33**
Число побегов	-0.15	-0.13	-0.41***
Длина колоса	0.14	-0.11	0.28**
Количество колосков в колосе	0.10	-0.38***	-0.13
Число зерен главного колоса	0.20*	0.10	0.27**
Вес зерна главного колоса	0.25**	-0.06	0.23*
Озерненность	0.26**	0.27**	0.32**
Число зерен вторичных побегов	0.10	0.13	0.27**
Число зерен с растения	0.12	0.13	0.31**
Общий вес зерна	0.20*	0.13	0.39***

n = 94. * – P < 0.05; ** – P < 0.01; *** – P < 0.001.

Активность растворимой ЛОГ листьев при нормальном водоснабжении растений была положительно связана с отдельными параметрами зерновой продуктивности, однако в условиях засухи эти связи не проявились (табл. 30). Число дней до цветения, число дней до восковой спелости и ККК, напротив, были взаимосвязаны с активностью ЛОГ только при водном дефиците; первые два параметра – положительно, а последний – отрицательно. Озерненность имела положительную корреляцию с активностью ЛОГ независимо от водного режима. Изменение уровня значений всех параметров под влиянием засухи (ИУ%), кроме ККК, были взаимосвязаны с изменением уровня активности ЛОГ. Взаимосвязи ИУ% активности ЛОГ с ИУ% всех параметров были положительными, за исключением корреляции с ИУ% числа побегов.

Связь активности ЛОГ листьев с параметрами биомассы и зерновой продуктивности изучалась также в популяции ЗЛ пшеницы ЧС/Синбх. Активность микросомальной ЛОГ (мЛОГ) при водном дефиците показала положительные корреляции с RWC ($r = 0.58$), Количеством зерен в колосе ($r = 0.51$), достоверные на 0.5% уровне значимости. Контрольный уровень активности растворимой хлоропластно-митохондриальной ЛОГ (р2ЛОГ) положительно коррелировал с ИУ по продуктивности, массе побега и суммой ИУ по всем изученным параметрам (таб. 31). У ЗЛ ЧС/Синбх, выращенных в условиях водного дефицита, была обнаружена корреляция с ИУ% по параметрам биомассы, Массе флагового листа и Длине стебля (данные по значениям параметров биометрии и компонентам урожая и их ИУ% представлены в табл. 15). ИУ% по Крупности зерна и сумма ИУ по всем изученным

параметрам были взаимосвязаны с активностью ЛОГ, как в контроле, так и в условиях засухи.

Таблица 31. Корреляционные связи между индексами устойчивости параметров и активностью ЛОГ во фракции растворимых белков хлоропластов и митохондрий (p2ЛОГ) в листьях пшеницы ЗЛ ЧС/Син6х

ИУ%	Активность p2ЛОГ	
	Контроль	Засуха
ИУ% по Массе побега	0.46*	0.41
ИУ% по Массе флагового листа	0.20	0.49*
ИУ% по Длине стебля	0.08	0.50 **
ИУ% по Массе колоса	0.60 **	0.35
ИУ% по Количеству зерен в колосе	0.54*	0.02
ИУ% по Массе зерна в колосе	0.61**	0.23
ИУ% по Крупности зерна	0,44*	0,43*
∑ ИУ% по параметрам биомассы	0.39	0.49*
∑ ИУ% по параметрам продуктивности	0.61**	0.22
∑ ИУ% по всем параметрам	0.61**	0.44*

* – $P < 0.05$; ** – $P < 0.01$.

В результате корреляционного анализа в трех популяциях пшеницы было показано, что активность ЛОГ листьев имела корреляционные взаимосвязи с биомассой, газообменом, интенсивностью фотосинтеза и зерновой продуктивностью пшеницы, как при благоприятных условиях, так и в условиях водного дефицита.

3.4. Влияние интрогрессии диких злаков в геном *Triticum aestivum* L. на активность липоксигеназы и физиологические параметры пшеницы

Дикие родственники пшеницы генетически более разнообразны, чем культивируемые пшеницы и являются источниками генов многих полезных признаков, в том числе устойчивости к абиотическим стрессам (Rauf et al., 2010). Синтетические гексаплоиды используются в качестве «мостов» для передачи чужеродного генетического материала в геном мягкой пшеницы (Давоян и др., 2012). На основе замещенных линий создаются наборы интрогрессированных рекомбинантных линий, у которых в геном селекционной пшеницы введены сегменты хромосом диких злаков. В нашей работе подобные модели – наборы замещенных и интрогрессированных рекомбинантных линий Чайниз Спринг/Синтетик 6х применены для изучения генетической архитектуры количественных признаков, таких как, газообмен, флуоресценция хлорофилла и активность ферментов в листьях, а также компоненты урожая. В данной главе представлены результаты по изучению влияния на

активность липоксигеназы и другие физиологические признаки интрогрессии в геноме *T. aestivum* L. трех диких злаков *Ae. speltoides*, *T. timopheevii* и *Ae. taushii*.

3.4.1. Интрогрессия *Aegilops speltoides*

Ae. speltoides – дикий родственник пшеницы, донор генома В, который широко используется для внедрения в геном пшеницы таких важных показателей как высокое качество зерна, устойчивость к болезням и температурным стрессам (Лапочкина и др., 1996). Для изучения влияния интрогрессии на активность семенных ЛОГ нами были исследованы интрогрессивные линии пшеницы сорта Родина х *Ae. speltoides*.

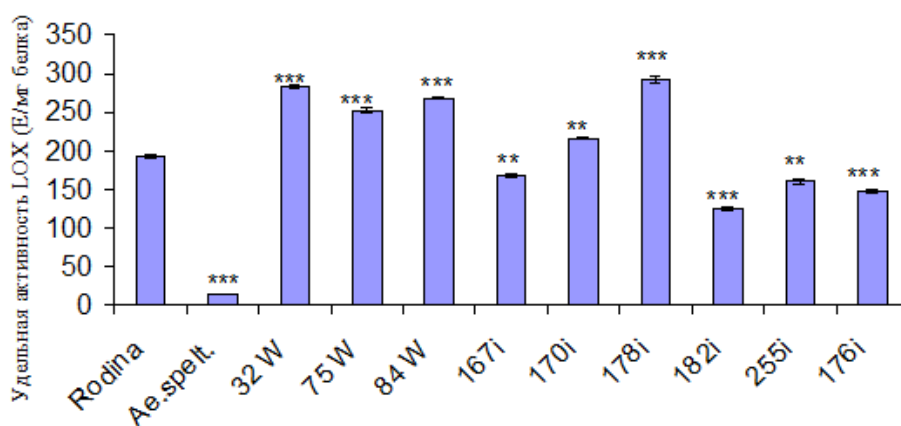


Рис. 48. Активность липоксигеназы в семенах интрогрессированных линий пшеницы *Родина* х *Ae. speltoides* (средние значения за 1999 и 2000 гг.).

** , *** – достоверность различий с сортом Родина: $P < 0.01$, $P < 0.001$, соответственно.

На рисунке 48 представлены средние значения активности ЛОГ за 2 года репродукции у родительских культур и девяти интрогрессивных линий. Уровень ферментативной активности у дикорастущего злака оказался значительно ниже, чем у мягкой пшеницы Родина и всех интрогрессивных линий. Возможно, это связано с возрастанием дозы гена при полиплоидизации, так как генов ЛОГ в гексаплоиде в три раза больше, чем в диплоиде. Интрогрессия вызывала достоверное увеличение уровня активности ЛОГ на генетическом фоне материнского сорта в линиях 32W, 75W, 84W, 178i, 170i. Липоксигеназная активность в линиях 167i, 182i, 255i и 176i достоверно уменьшалась в сравнении с сортом Родина. Коэффициент наследуемости (h^2) по данным двух лет наблюдения равен 0.81, то есть вклад генотипа в проявление активности ЛОГ у этой популяции пшеницы составляет 81 %, а вклад средовых факторов – 19 %.

Молекулярными генетиками в 6 линиях интрогрессия была подтверждена при помощи субтеломерных повторов Spelt 1 и Spelt 52 (Salina et al., 2001), являющихся специфическими маркерами *Ae. speltoides*. Мы обнаружили, что уровни удельной активности ЛОГ в интрогрессированных линиях тесно коррелируют с количеством субтеломерного повтора Spelt1 (табл. 32).

Таблица 32. Субтеломерные повторы и активность ЛОГ в интрогрессированных линиях *Родина x Ae. speltoides*

	Spelt1(cpm)	Spelt 52 (cpm)	Уд акт ЛОГ
32 W	3180	286	283.8
167i	674	134	167.5
170i	1918	162	216.2
178i	4494	247	291.6
182i	263	1504	124.7
255i	300	179	160.0
Коэффициент корреляции	0.965**	-0.510	

** – $P < 0.01$.

Уровни ферментативной активности в интрогрессированных линиях были прямо пропорциональны степени выраженности интрогрессии, найденной при помощи субтеломерного повтора Spelt 1 (рис. 49). Так как хромосома 7S эгилопса гомеологична хромосоме 7В гексаплоидной пшеницы, а линии с высоким содержанием Spelt 1 несут замещение 7S/7D, можно предположить, что на хромосоме 7В находится ген для активности ЛОГ, который был привнесен в геном гексаплоидной пшеницы *Ae. speltoides*.

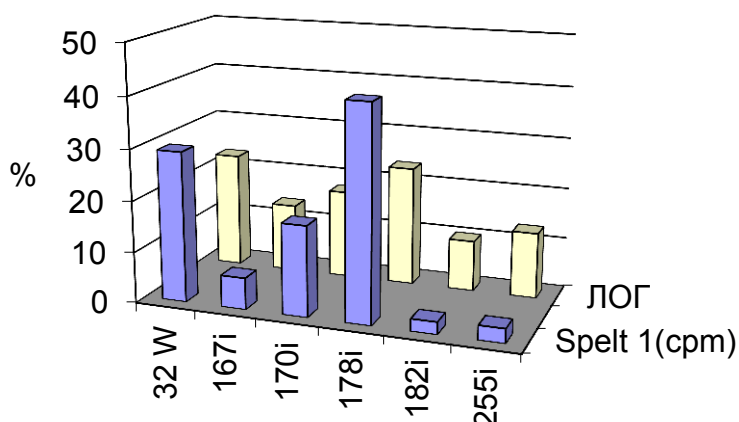


Рис. 49. Субтеломерный повтор Spelt 1 и удельная активность липоксигеназы в интрогрессированных линиях *Родина x Ae. speltoides* в % от суммы.

3.4.2. Интрогрессия *Triticum timopheevii*

Сорт яровой пшеницы Саратовская 29, созданный в конце 50-х годов прошлого века в НИИСХ Юго-Востока, широко возделывался в СССР, и до сих пор является непревзойденным по засеваемым площадям. Он также широко вовлекался в разнообразные научные исследования и послужил генетической основой цитогенетических и интрогрессивных коллекций (Budashkina, 1988; Arbuzova et al., 1996). Сорт хорошо изучен по морфологическим признакам и отличается высокой засухоустойчивостью (Ильина, 1989). К отрицательным свойствам сорта относится его низкая устойчивость к грибным заболеваниям. Для улучшения этого признака в сорт путем гибридизации были интрогрессированы участки генома тетраплоидного вида *T. timopheevii* (GGAA) (Budashkina, 1988), обладающего комплексной устойчивостью к ряду фитопатогенов.

Таблица 33. Средние значения параметров у родительского сорта Саратовская 29 (С29) и линии 821 с интрогрессиями от *T. timopheevii* в контрастных условиях полива

Параметры	С29			821			F _G	F _E
	контроль	засуха	ИУ%	контроль	засуха	ИУ%		
Активность ЛОГ	3.5	2.7	77.9	1.5	5.9	397.3	0.9 н/д	8.6**
Масса побега, г	4.7	3.0	64.0	3.5	2.6	75.3	14.2***	34.0***
Показатели газообмена								
СТ (мм м ⁻² с ⁻¹)	0.3	0.5	163.5	1.3	0.7	52.2	130.8***	16.2***
УП (мм м ⁻² с ⁻¹)	22.4	38.9	173.7	102.0	50.9	49.9	134.8***	19.2***
СА (μМ м ⁻² с ⁻¹)	1.8	2.9	159.8	5.3	3.6	67.2	165.0***	4.0 н/д
ЭИВ (СА/СТ)	6.4	6.7	104.7	4.1	5.4	131.7	17.3***	3.3 н/д
Содержание фотосинтетических пигментов								
Хлорофилл а	2.4	2.1	87.5	2.1	1.8	85.7	6.0*	7.6**
Хлорофилл b	0.9	1.0	109.9	0.9	0.8	91.8	9.6**	0.1 н/д
Каротиноиды	0.5	0.6	116.7	0.5	0.4	93.6	8.6**	1,0 н/д
Параметры флуоресценции хлорофилла								
Fv/Fm	0.8	0.8	102.2	0.7	0.8	106.4	1.2 н/д	46,4***
ЭФКВ(II)	0.6	0.6	96.5	0.5	0.5	101.2	74.4***	0.5 н/д
СЭТ(μМ·м ⁻² ·с ⁻¹)	38.0	36.8	96.8	32.7	33.1	101.2	73.0***	0.6 н/д
NPQ	0.3	0.3	109.7	0.4	0.3	81.1	11.8**	1.4 н/д

СТ – скорость транспирации; УП – устьичная проводимость; СА – скорость ассимиляции CO₂; ЭИВ – эффективность использования воды; Fv/Fm – максимальная (потенциальная) квантовая эффективность ФС II; ЭФКВ(II) – эффективный фотохимический квантовый выход ФС II; СЭТ – скорость электронного транспорта; NPQ – нефотохимическое тушение флуоресценции.

** – P < 0.01; *** – P < 0.001; н/д – статистически недостоверно.

Одна из линий, 821, созданная на генетическом фоне сорта Саратовская 29, значительно отличается по фенотипу. Она имеет более продолжительный период вегетации, остистый колос и длинные жесткие трихомы на листьях, подобно родительскому виду *T.*

timopheevii. Как было показано, она несет интрогрессии в хромосомах 2A, 2B и 5A, обозначенные с помощью микросателлитных маркеров (Leonova et al. 2001).

В нашей работе было изучено влияние этих интрогрессий на активность растворимой ЛОГ листьев и физиологические признаки, связанные с высокой засухоустойчивостью, которой характеризуется исходный сорт Саратовская 29. По признаку Биомасса побега линия 821 уступала исходному сорту С29 независимо от условий выращивания (табл. 33). Водный дефицит угнетающе действовал на формирование биомассы побега у обоих генотипов. Генотипы в оптимальных условиях водоснабжения существенно различались по скорости транспирации: у линии 821 она была в 4 раза выше. В условиях дефицита воды скорость транспирации у линии 821 снизилась в 2 раза, тогда как у сорта С29 увеличилась в 1,8 раза. Это нетипично для большинства растений и, вероятно, связано со специфической реакцией на водный дефицит высоко засухоустойчивого сорта С29. Такие же тенденции наблюдали для устьичной проводимости – в оптимальных условиях устьичная проводимость у линии 821 была почти в 5 раз выше по сравнению с С29, снижаясь в условиях водodefицита в 2 раза. У С29 этот признак, наоборот, увеличивался в условиях водного стресса. Скорость ассимиляции CO_2 в оптимальных условиях у С29 была в 3 раза выше, чем у линии 821. В условиях водodefицитного стресса СА увеличивалась почти на 60 % у С29 и снижалась на 34 % у линии 821. Хотя двухфакторный анализ не выявил достоверных различий между средними значениями СА в разных условиях водоснабжения (табл. 20), анализ достоверности различий между средними значениями каждого генотипа в различных условиях (однофакторная модель) показал их существенные различия (для С29 – $F = 14.7$; для 821 линии – $F = 179.1$; $P < 0.001$). Эффективность использования воды у линии 821 была снижена по сравнению с исходным сортом, но повышалась в условиях водного дефицита.

Два генотипа значимо различались по содержанию хлорофиллов а и b, причем линия 821, независимо от условий выращивания, содержала меньше, как хлорофилла а, так и хлорофилла b. Содержание хлорофилла а в водodefицитных условиях у обоих генотипов снижалось, а содержание хлорофилла b снижалось только у линии 821. По содержанию каротиноидов в оптимальных условиях генотипы не различались. В условиях водodefицита в листьях линии 821 содержалось меньше каротиноидов, что подтвердил однофакторный анализ этого признака ($F = 8.7$, $P < 0.05$). Таким образом, линия 821 уступала исходному сорту по содержанию хлорофиллов и способности поддерживать на высоком уровне содержание каротиноидов. Кроме того, линия 821 уступала сорту С29 по реальной эффективности фотосинтеза и скорости транспорта электронов в фотосистеме II независимо от условий выращивания. Потенциальная эффективность фотосистемы II не отличалась у

двух генотипов и достоверно возрастала в воддефицитных условиях. Нефотохимическое тушение флуоресценции было выше у линии 821, однако в условиях засухи снижалось, в отличие от С29, которая несколько повышала этот показатель. В оптимальных условиях линия 821 существенно отличалась от исходного сорта по активности ЛОГ, которая была у линии ниже в 2.4 раза. В условиях водного дефицита в листьях линии 821 активность ЛОГ значительно (почти в 4 раза) возрастала, а у С29, напротив, снижалась.

Таким образом, интрогрессия в три хромосомы сорта С29 от *T. timopheevii* привела к существенному повышению транспирации и устьичной проводимости, снижению эффективности использования воды и некоторых характеристик фотосинтеза в тканях листа, по сравнению с высоко засухоустойчивым сортом С29 при оптимальных условиях. В результате действия водного дефицита листья линии 821 подвядали, теряя тургор, тем не менее, ИУ% по эффективности использования воды, массе побега, потенциальной и реальной эффективности фотосинтеза и скорости транспорта электронов были несколько выше у линии 821, чем у исходного сорта. По активности ЛОГ, показателям газообмена и содержанию хлорофилла *b* и каротиноидов реакция на стресс кардинально различалась у двух генотипов. Это говорит о том, что хромосомы 2A, 2B и 5A несут важные генетические факторы, обеспечивающие физиологические и биохимические механизмы адаптации к засухе, различающиеся у С29 и *T. timopheevii*.

3.4.3. Интрогрессия *Aegilops taushii*

Для изучения влияния интрогрессии *Ae. taushii* в геном мягкой пшеницы на активность нескольких форм ЛОГ и физиологические признаки использовали ИРЛ пшеницы ЧС /Син бх, выращенные в условиях разного водообеспечения. В главах 3.1.4.3., 3.2.2., 3.3.2.2 были представлены данные по активности ЛОГ в семенах (табл.16), проростках (табл. 19) и листьях (табл. 21, 22), а также по биомассе побега, параметрам фотосинтеза, газообмена и зерновой продуктивности у родителей, средние значения для ИРЛ по хромосомам 2D, 4D, 5D, 7D этой пшеничной популяции при оптимальных и воддефицитных условиях и ИУ% параметров. Было показано, что родители различались по уровню значений активности отдельных форм фермента и изученных физиологических параметров. Среди ИРЛ по всем параметрам наблюдался широкий размах значений независимо от режима водообеспечения. В данной главе представлены результаты изучения влияния на активность ЛОГ интрогрессии *Ae. taushii* в геном *T. aestivum* на примере двадцати линий по хромосоме 2D, каждая из которых несет определенный участок интрогрессии *Ae. taushii* в хромосоме 2D (Pestsova et al., 2006; рис. 12).

Влияние интрогрессия *Ae. taushii* на уровень значений изучаемых признаков выявляли, сравнивая отдельные ИРЛ и сорт-реципиент ЧС по уровням значений признаков и по тенденциям их изменений под влиянием засухи (ИУ%). При нормальном водообеспечении (рис. 50) активность ЛОГ была выше в растворимой белковой фракции. Показатели средней активности ЛОГ у родителей не имели значимых различий. Линии 2D-1.3 и 2D-5 показали самый высокий уровень активности растворимой ЛОГ, а линии 2D-3, 2D-4, 2D-6, 2D-10 – наименьший. В мембранной фракции активность ЛОГ у сорта-донора была выше, чем у реципиента. Линии 2D-2, 2D-3, 2D-5, 2D-6, 2D-9, 2D-12, 2D-13, 2D-14, 2D-17, 2D-18 имели активность выше, чем у ЧС. Линии 2D-1.2, 2D-8, 2D-15, 2D-16 отличались наиболее низким уровнем, а линии 2D-2, 2D-9, 2D-14 – наиболее высоким уровнем активности ЛОГ. В хлоропластных фракциях значения удельной активности ЛОГ у всех генотипов были невысокими. Синбх и большинство линий, за исключением 2D-3, 2D-5, 2D-10, 2D-16 имели уровень ферментативной активности ХлРЛОГ выше, чем у донора. Во фракции мембранных белков хлоропластов Синбх и все изученные линии, за исключением 2D-3, имели более высокий уровень активности ЛОГ, чем ЧС.

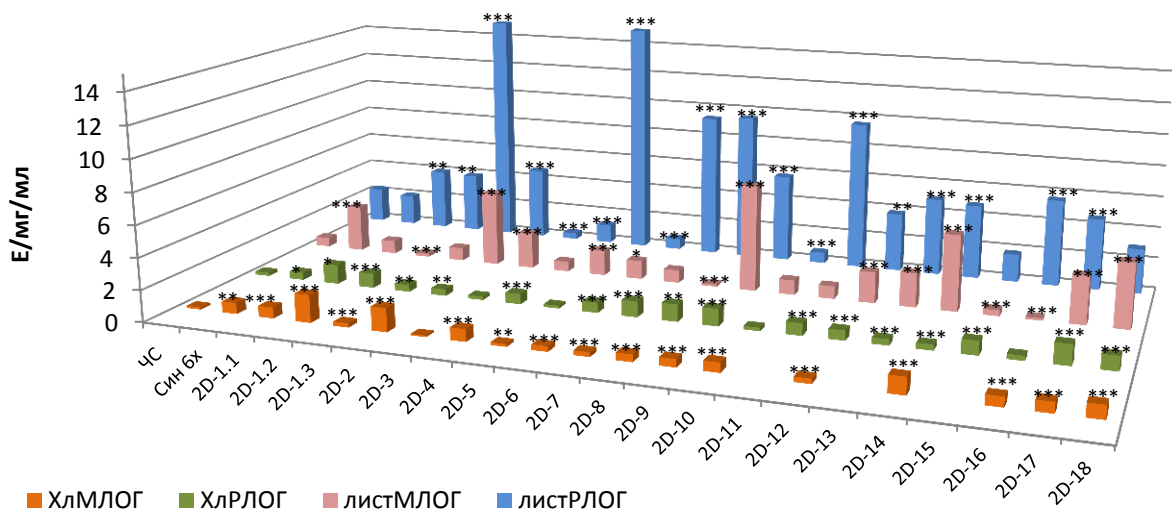


Рис. 50. Активность ЛОГ в четырех белковых фракциях из листьев пшеницы ИРЛ ЧС/Синбх по хромосоме 2D в условиях оптимального водообеспечения.

Обозначения для рис. 50 – 52: листРЛОГ – активность растворимой формы ЛОГ листьев; листМЛОГ – активность мембраносвязанной формы ЛОГ листьев; хлРЛОГ – активность растворимой формы ЛОГ хлоропластов; хлМЛОГ – активность ЛОГ, связанной с мембранами хлоропластов.

На рис. 50 – 52 для растворимых фракций даны средние значения двух независимых экспериментов, каждый из которых включал по три биологических повторности, а для мембранных – средние значения одного эксперимента. Достоверность различий уровней значений активности ЛОГ с сортом-реципиентом: * – $P < 0.05$; ** – $P < 0.01$; *** – $P < 0.001$.

В условиях засухи (рис. 51), как и в контроле, наиболее высокий уровень значений активности ЛОГ наблюдался во фракции растворимых белков. Активность всех форм ЛОГ, кроме ХлРЛОГ, у Синбх была выше, чем у ЧС. Уровень активности листРЛОГ всех генотипов, за исключением линий 2D-6, 2D-10 и 2D-15, значительно превышал уровень ЧС. Уровень активности в мембранной фракции был значительно ниже уровня активности растворимой ЛОГ. Все линии по уровню ферментативной активности листМЛОГ превосходили ЧС, а линии 2D-7, 2D-8, 2D-10 отличались наиболее высокой активностью. В хлоропластной растворимой фракции родители значимо не различались по уровню значений ферментативной активности. Линии 2D-1.3, 2D-3, 2D-5, 2D-11, 2D-13 и 2D-14 показали более низкий уровень активности, чем ЧС. Линии 2D-1.2, 2D-4, 2D-7, 2D-8, 2D-10 превышали ЧС по уровню значений активности ХлРЛОГ. В хлоропластно-мембранной белковой фракции в условиях засухи все генотипы, кроме 2D-3, 2D-8 превышали донорский генотип по уровню ферментативной активности. Линии 2D-1.2, 2D-4, 2D-7 и 2D-8, 2D-18 имели высокий уровень активности ЛОГ во всех белковых фракциях.

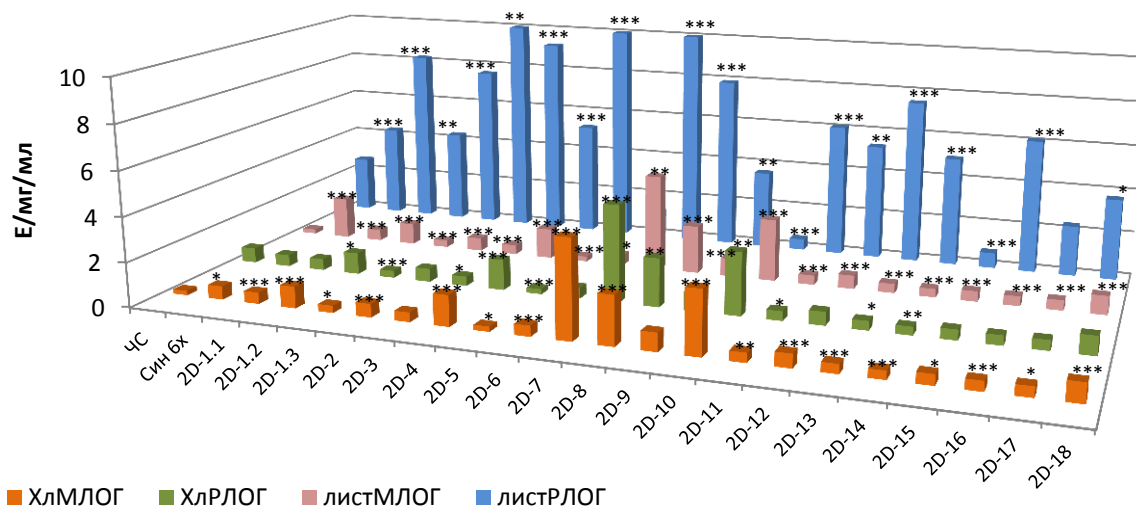


Рис. 51. Активность ЛОГ в четырех белковых фракциях из листьев пшеницы ИРЛ ЧС(Синбх) по хромосоме 2D в условиях засухи. Обозначения как на рис. 50.

Как видно на рис. 52, родители четко различались по характеру изменений уровней активности разных форм ЛОГ под воздействием засухи. ИУ% активности растворимой и мембранной форм ЛОГ были выше у Синбх, а обеих хлоропластных форм выше у ЧС. По ИУ% активности ЛОГ наблюдался полиморфизм среди ИРЛ во всех четырех белковых фракциях. В растворимой фракции линии 2D-1.1, 2D-3, 2D-4, 2D-6 превышали сорт-реципиент, проявляя тенденцию, аналогичную донорскому генотипу. В мембранной фракции

оба родителя снижали уровень активности под воздействием засухи, но Синбх в значительно меньшей степени. По ИУ% активности листМЛОГ многие линии превышали уровень реципиента. Это линии 2D-1.1, 2D-1.2, 2D-1.3, 2D-4, 2D-5, 2D-6, 2D-8, 2D-10; 2D-13, 2D-15, 2D-16, 2D-17, 2D-18, причем у большинства из них, в отличие от родителей, ИУ% активности листМЛОГ был выше 100%. ИУ% активности хлоропластных форм фермента у Синбх были значительно ниже, чем у ЧС, а большинство линий проявляло тенденцию Синбх. По ИУ% ХлРЛОГ это все линии, кроме 2D-7 и 2D-10. По ИУ% ХлМЛОГ тенденцию донора проявили линии 2D-1.1, 2D-1.2, 2D-2, 2D-4, 2D-6, 2D-9, 2D-14, 2D-17, 2D-18.

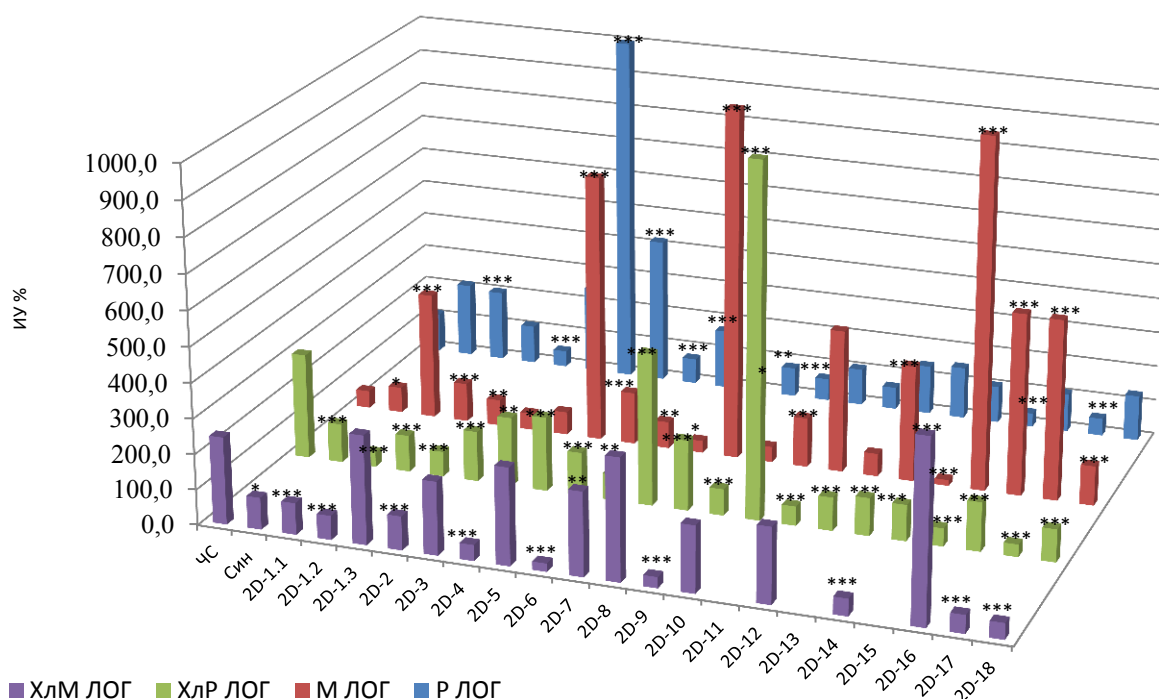


Рис. 52. Индексы устойчивости (ИУ%) активности ЛОГ в четырех белковых фракциях из листьев пшеницы ИРЛ ЧС(Синбх) по хромосоме 2D.

Обозначения как на рис. 50.

Данные по активности четырех форм ЛОГ у родителей и двадцати ИРЛ ЧС/Синбх по хромосоме 2D показали, что интрогрессия *Ae. taushii* в хромосому 2D гексаплоидной пшеницы сорта ЧС влияла на ферментативную активность всех четырех изученных форм ЛОГ как при оптимальных условиях выращивания растений, так и в условиях засухи, а также на характер изменения уровня активности под влиянием засухи. Независимо от условий водообеспечения интрогрессия дикого злака вызывала увеличение активности всех форм ЛОГ в сравнении с сортом-реципиентом у большинства линий, за исключением активности ХлРЛОГ в условиях засухи.

Проявление интрогрессии *Ae. taushii* по активности каждой из четырех форм ЛОГ выявлялось у разных линий, так как РИЛ имеют разные участки интрогрессии в хромосоме 2D, а, как будет показано далее, несколько генетических факторов, независимо регулирующих активность отдельных форм фермента, находятся в разных областях хромосомы 2D (рис. 52). Только три линии 2D-1.1, 2D-4 и 2D-18 в основном повторяли тенденцию донора по активности всех изученных форм ЛОГ как при оптимальных, так и водodefицитных условиях, а также по их ИУ%.

Таблица 34. Индексы устойчивости параметров в двух выборках ИРЛ ЧС/Синбх по хромосоме 2D

ИУ%	выборка 1		выборка 2			
	ср. знач.	ст. откл.	ср. знач.	ст. откл.	min	max
листРЛОГ	250.6	149.7	238.3	495.0	38.6	2308.8
листМЛОГ	413.1	328.6	331.2	428.7	16.8	1700.0
хлРЛОГ	115.1	87.0	185.7	290.6	35.5	1361.4
хлМЛОГ	60.1	25.4	163.6	138.3	23.4	511.0
МП	41.7	5.1	49.0	9.4	36.8	69.8
Хл _а	110.9	15.2	128.7	20.7	94.3	164.5
Хл _б	113.8	5.9	131.1	20.4	99.6	168.6
Хл _{а+б}	112.0	12.3	135.0	28.4	98.7	221.8
Кар	103.0	13.2	117.1	17.3	87.8	150.1
Хл _{а+б} /Кар	112.3	3.5	112.9	7.4	100.7	133.6
СТ	36.3	6.6	54.1	21.4	28.8	110.1
УП	28.4	3.5	48.1	26.5	20.0	125.0
СА	77.4	15.1	82.2	12.7	61.9	109.4
ЭИВ	234.1	39.1	181.1	61.5	65.5	313.1
ЭФКВ(II)	95.7	3.6	97.5	7.1	89.3	114.2
СЭТ 160	100.0	1.2	100.3	1.8	97.4	103.6
α	119.8	6.1	106.7	11.9	87.1	127.9
СЭТ max	92.3	7.2	88.6	10.6	64.8	108.3
Lk	135.0	27.7	139.8	44.3	69.2	282.9
NPQ	151.4	60.0	172.5	72.2	62.5	357.0

Выборка 1 включала три линии: 2D-1.1, 2D-4 и 2D-18. Выборка 2 включала 20 линий: 2D-1.1, 2D-1.2, 2D-1.3, 2D-2, 2D-3, 2D-4, 2D-5, 2D-6, 2D-7, 2D-8, 2D-9, 2D-10; 2D-11, 2D-12, 2D-13, 2D-14, 2D-15, 2D-16, 2D-17, 2D-18. МП - масса побега; Хл_а – содержание хлорофилла а; Хл_б – содержание хлорофилла b; Хл_{а+б} – содержание общего хлорофилла; Кар – содержание каротиноидов; Хл_{а+б}/Кар – отношение содержания общего хлорофилла к содержанию каротиноидов; СТ - скорость транспирации; УП – устьичная проводимость; СА – скорость ассимиляции CO₂; ЭИВ – эффективность использования воды (СА/СТ); F_o – фоновая флуоресценция хлорофилла в темноте, F_v/F_m – максимальная квантовая эффективность ФС II; ЭФКВ(II)- эффективный фотохимический квантовый выход ФС II; СЭТ - скорость электронного транспорта; NPQ – нефотохимическое тушение флуоресценции. Представлены средние значения двух независимых экспериментов.

Для понимания взаимосвязи влияния интрогрессии *Ae. taushii* на изменение активности ЛОГ и физиологических параметров при действии водodefицитного стресса в таблице 34 представлены данные по средним значениям ИУ% признаков для трех линий 2D-

1.1, 2D-4 и 2D-18 (выборка 1) в сравнении со средними значениями для всех 20 ИРЛ по хромосоме 2D (выборка 2), отличающихся большой вариабельностью значений.

Как видно из таблицы 34, средние ИУ% активности растворимой и мембранной форм ЛОГ в выборке 1 соответствовал среднему уровню этого параметра в выборке 2. Однако средние ИУ% активности обеих хлоропластных форм фермента в выборке 1 были низкими в сравнении с выборкой 2. Уровни значений МП, содержания фотосинтетических пигментов, флуоресценции хлорофилла в выборке из 3 линий также соответствовали среднему значению этого параметра в выборке из 20 линий. Различия между выборками были связаны с параметрами газообмена. Средний уровень значений скорости транспирации и устьичной проводимости линий 2D-1.1, 2D-4 и 2D-18 оказался ниже среднего значения для всех 20 ИРЛ по хромосоме 2D.

Таким образом, по нашим данным, наследование активности всех изученных форм ЛОГ по типу Синбх, несущего интрогрессии *Ae. taushii*, приводило к более низкой устьичной проводимости и транспирации в условиях водного дефицита. Вероятно, адаптация к засухе у дикого злака связана с увеличением активности растворимой ЛОГ листьев, которая, очевидно, участвовала в регуляции устьичных эффектов в условиях засухи, в то время как хлоропластные формы фермента не инициировались водным дефицитом.

3.5. Картирование в геноме пшеницы локусов, ассоциированных с активностью липоксигеназы, физиологическими и технологическими признаками с использованием нескольких картирующих популяций рекомбинантных линий

Данные фенотипирования трех картирующих популяций рекомбинантных линий по активности ЛОГ и других ферментов, параметрам зерновой продуктивности, качества клейковины, газообмена и фотосинтеза были использованы нами для картирования этих признаков в геноме *T. aestivum*.

3.5.1. Картирование локусов, ассоциированных с активностью растворимой липоксигеназы семян и параметрами качества клейковины при помощи рекомбинантных инбредных линий пшеницы ITMI

При помощи данной популяции были обнаружены локусы, связанные с несколькими параметрами качества зерна на хромосомах 1A, 1B, 2D, 3A, 4B, 5B, 5D, 6A и 7A (Пшеничникова и др., 2008) и активностью глутатион-зависимой тиолпротеиндисульфидредуктазы (ТПДО) на хромосомах 5D, 4A, 6A и 7D (Пшеничникова и др., 2008).

Данные по активности растворимой ЛОГ семян у РИЛ пшеничной популяции ITMI и их родителей (табл. 14) позволили картировать этот признак в геноме пшеницы. На рисунке 53 показаны карты хромосом с выявленными нами ЛКП для активности ЛОГ, отношения активностей ЛОГ/ТПДО и сцепленных признаков.

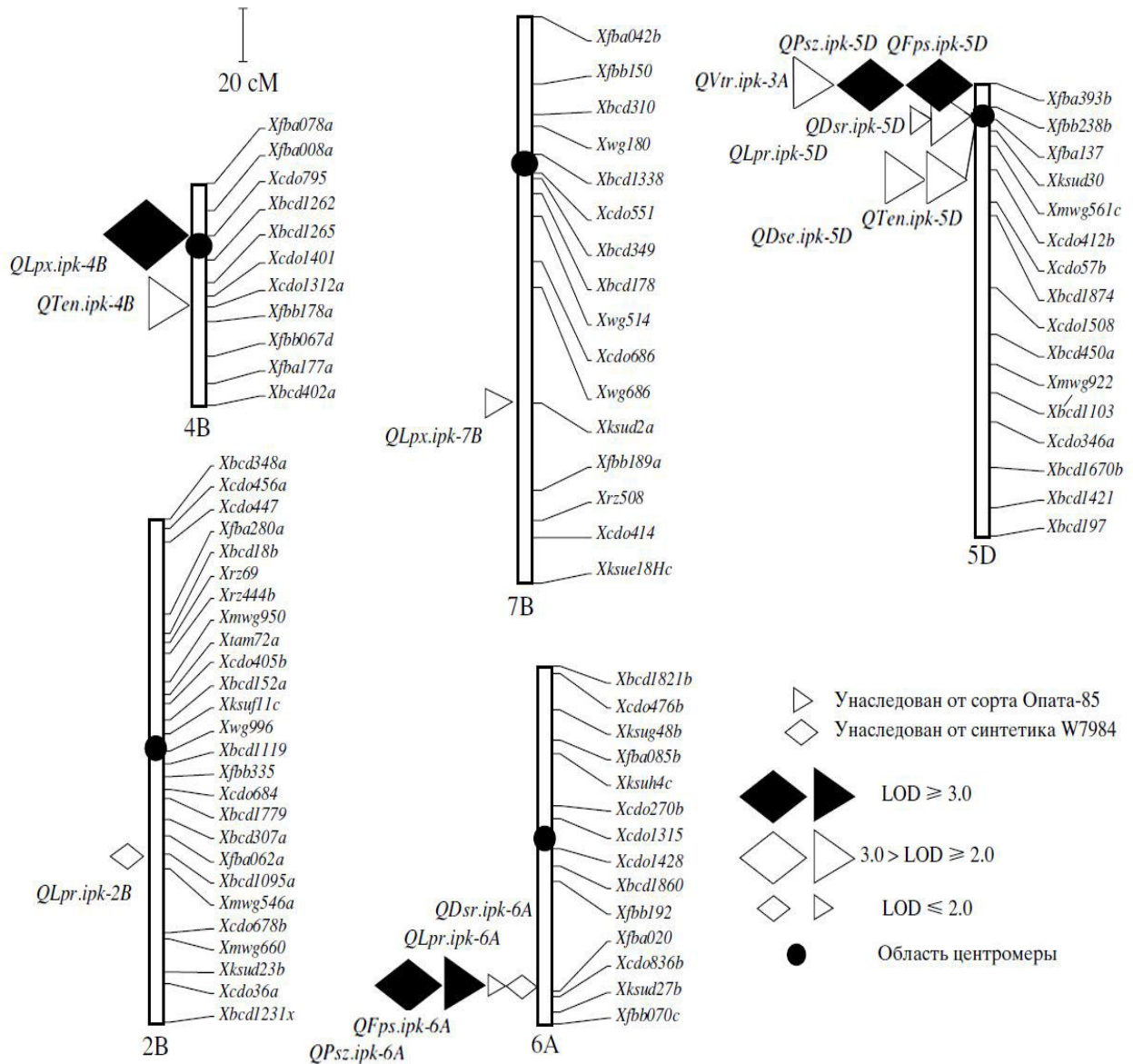


Рис. 53. Картирование ЛКП для активности растворимой ЛОГ семян, отношения активностей ЛОГ/ТПДО и тесно сцепленных признаков при помощи рекомбинантных инбредных линий ITMI-популяции.

Обозначения ЛКП: *QLpx.ipk-4B*, *QLpx.ipk-7B* – активность ЛОГ; *QDsr.ipk-7D*, *QDsr.ipk-5D*, *QDsr.ipk-6A* – активность ТПДО; *QLpr.ipk-5D*, *QLpr.ipk-6A*, *Lpr.ipk-2B* – отношение активностей ЛОГ/ТПДО; *QTen.ipk-4B*, *QTen.ipk-5D* – Упругость; *QFps.ipk-5D*, *QFps.ipk-6A* – Размер частиц муки; *QPsz.ipk-6A*, *QPsz.ipk-5D* – Удельная поверхность частиц муки; *QVtr.ipk-2D* – Стекловидность; *QDse.ipk-5D* – Сила муки.

С использованием популяции ITMI нами был идентифицирован лишь один высоко достоверный локус *QLpx.ipk-4B* на коротком плече хромосомы 4В вблизи маркера *Xbcd1262*, ответственный за полиморфизм по удельной активности растворимой ЛОГ. Донором высоких значений был Синтетик W7984, геном В которого привнесён от *T. durum*. Второй минорный локус для активности ЛОГ *QLpx.ipk-7B* был обнаружен нами на хромосоме 7В вблизи маркера *Xksud2a*. Он достоверно проявился только в благоприятных условиях выращивания 2000 года. Донором более высоких значений был сорт Opata-85.

Отношение активности ЛОГ, способной окислять SH-группы белков с образованием SS-связей к активности ТПДО, катализирующей противоположный процесс разрыва SS-связей, может влиять на ред/окс состояние клетки и определять SH/SS статус в белках клейковины. Для отношения активностей ЛОГ/ТПДО было выявлено три ЛКП на хромосомах 5D, 6А и 2В. Первые два совпали с положением молекулярных маркеров, найденных для активности ТПДО, а третий был самостоятельным и проявился независимо от условий выращивания растений пшеницы, но с невысокой степенью достоверности. Донором более высоких значений этого признака для ЛКП на хромосомах 5D и 6А был сорт Опата, а для ЛКП на хромосоме 2В – Синтетик W7984.

3.5.2. Картирование локусов, ассоциированных с активностью разных форм липоксигеназы и физиологическими параметрами при помощи интрогрессированных рекомбинантных линий пшеницы Чайниз Спринг/Синтетик 6х

Анализ ЛКП. На рисунке 54 показаны хромосомные области, ассоциированные с ферментативной активностью ЛОГ в нескольких органах и клеточных компартментах пшеницы, а также другими физиологическими признаками, обнаруженные с использованием ИРЛ ЧС/Син 6х. В таблице 35 показаны маркеры, сцепленные с активностью ЛОГ и статистическая значимость идентифицированных ЛКП.

Активность семРЛОГ была картирована на коротком плече хромосомы 4D в области маркеров *Xgdm129 – Xgwm3000* при оптимальном водоснабжении с LOD 2.44, а при водном дефиците с LOD 1.63.

У проростков в условиях, имитирующих засуху с использованием ПЭГ6000, активности растворимой и мембранной форм ЛОГ были картированы в разные регионы хромосомы 5D. ЛКП для активности прРЛОГ был обнаружен на длинном плече хромосомы 5D в области, ограниченной маркерами *Xgwm1122* и *Xgwm182*. ЛКП, ассоциированный с активностью прМЛОГ был найден на коротком плече хромосомы 5D и оказался сцепленным с маркерами *Xgwm190*, *Xgwm205*, *Xgwm1252*.

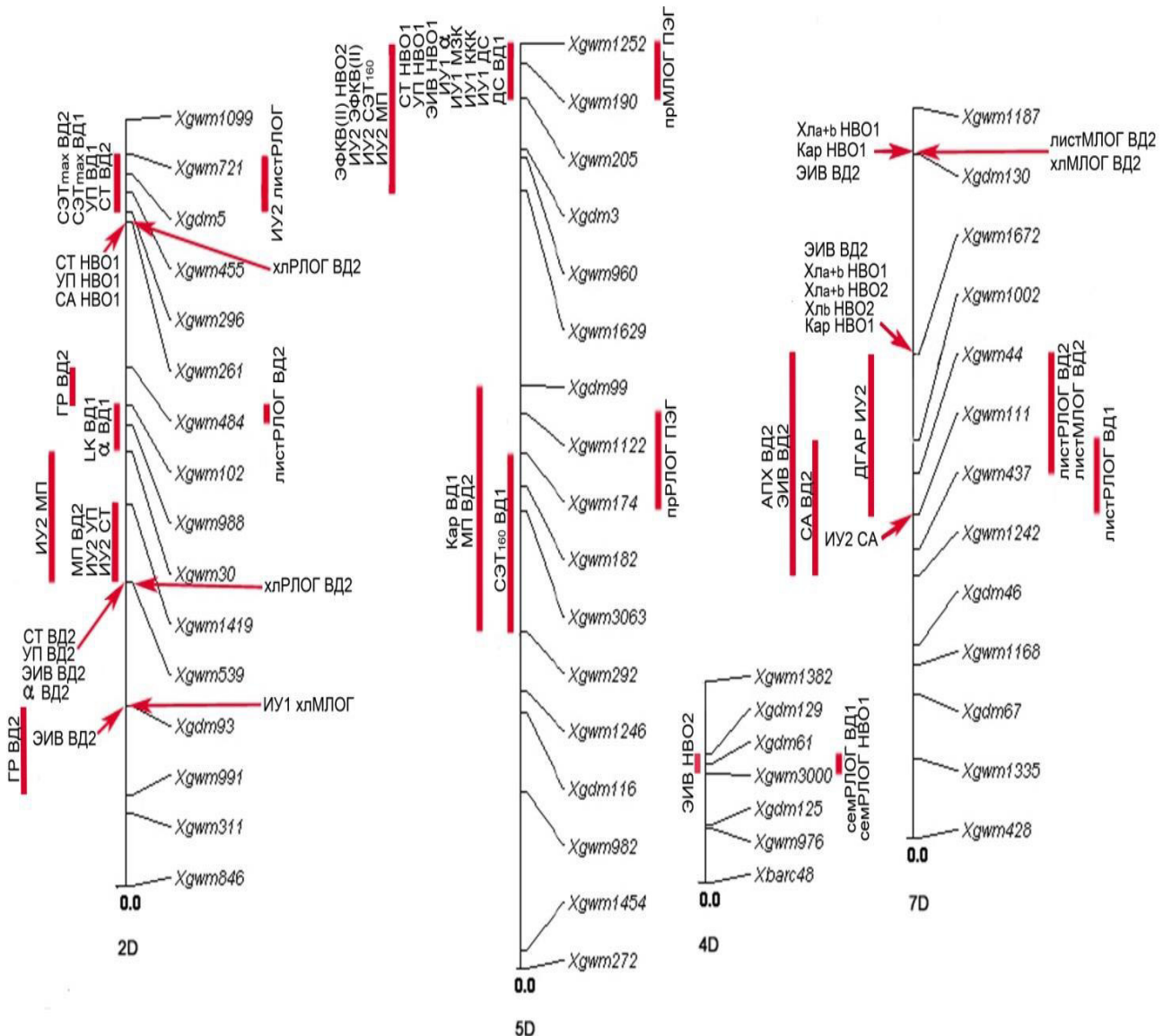


Рис. 54. Хромосомные области, ассоциированные с активностью липоксигеназы и физиологическими параметрами в геноме *D. T. aestivum* L. при водном дефиците.

семРЛОГ – активность растворимой формы ЛОГ семян; прРЛОГ – активность растворимой формы ЛОГ проростков; прМЛОГ – активность мембраносвязанной формы проростков; листРЛОГ – активность растворимой формы ЛОГ листьев; листМЛОГ – активность мембраносвязанной формы ЛОГ листьев; хлРЛОГ – активность растворимой формы ЛОГ хлоропластов; хлМЛОГ – активность ЛОГ, связанной с мембранами хлоропластов; МП – масса побега; Хл (*a+b*) – содержание общего хлорофилла; Кар – содержание каротиноидов; СТ – скорость транспирации; УП – устьичная проводимость; СА – скорость ассимиляции CO₂ или нетто-фотосинтез; ЭИВ – эффективность использования воды; ЭФКВ(II) – эффективный фотохимический квантовый выход ФС II; СЭТ160 – скорость электронного транспорта в фотосистеме II при 160 μmol photons/(m²·s); α – начальный наклон световой кривой, связанный с максимальным выходом электронного транспорта в условиях ограниченного света; СЭТmax – максимальная скорость электронного транспорта; Lk – интенсивность света, выражающая начало насыщения ФАР; GR – глутатион редуктаза; АПХ – аскорбат пероксидаза; ДГАР – пероксидаза; ДС – длина стебля; ККК – количество колосков в колосе; МЗК – масса зерна в колосе.

НВО – нормальное водообеспечение; ВД – водный дефицит; ИУ – индекс устойчивости.

Растения выращены: 1 – в теплице, 2 – в климатической камере; ПЭГ – проростки выращены на 12% р-ре ПЭГ 6000.

ЛКП для активности листРЛОГ при недостаточном водообеспечении в местоположении 1 (теплица) был ассоциирован с маркерами *Xgwm1002*, *Xgwm44*, *Xgwm111* хромосомы 7D. В местоположении 2 (климатическая камера) локусы активности как растворимой, так и мембраносвязанной ЛОГ, были связаны с маркерами *Xgwm1672*, *Xgwm1002*, *Xgwm44*. Таким образом, маркеры *Xgwm1002* и *Xgwm44* при водном дефиците оказались сцепленными с активностью листРЛОГ независимо от различий условий двух местоположений выращивания растений. Активность листРЛОГ в условиях засухи, кроме хромосомы 7D, была картирована в центромерной области хромосомы 2D и была связана с маркерами *Xgwm102* и *Xgwm988*. Локус для ИУ листРЛОГ был обнаружен в дистальном участке короткого плеча этой хромосомы в области фланкирующих маркеров *Xgwm721*-*Xgwm296*. Недалеко от локуса для ИУ листРЛОГ была картирована активность хлРЛОГ в условиях водного дефицита, которая была связана с маркером *Xgwm261*.

Таблица 35. Маркеры, ассоциированные с активностью различных форм ЛОГ у ИРЛ ЧС(Син) в разных условиях выращивания

Формы ЛОГ в разных условиях выращивания	Маркер, ближайший к LOD max	Хро-мо-сома	Источ. высок. активн.	LOD max	Значимость LOD (P)
семРЛОГ НВО1	<i>Xgdm129</i>	4D	Син	2.4	0.004
семРЛОГ ВД1				1.6	0.023
прРЛОГ ПЭГ	<i>Xgwm1122</i>	5D	ЧС	2.0	0.011
прМЛОГ ПЭГ	<i>Xgwm190</i>	5D	ЧС	2.7	0.003
листРЛОГ ВД1	<i>Xgwm111</i>	7D	ЧС	2.7	0.001
листРЛОГ ВД2	<i>Xgwm1002</i>	7D	ЧС	1.9	0.006
	<i>Xgwm102</i>	2D	ЧС	2.4	0.002
ИУ2 листРЛОГ	<i>Xgwm455</i>	2D	ЧС	2,2	0.003
листМЛОГ ВД2	<i>Xgwm1002</i>	7D	ЧС	2.3	0.002
	<i>Xgdm130</i>	7D	ЧС	1.7	0.008
хлРЛОГ ВД2	<i>Xgwm261</i>	2D	ЧС	2.9	0.001
	<i>Xgwm539</i>	2D	Син	1.6	0.011
хлМЛОГ ВД2	<i>Xgdm130</i>	7D	ЧС	1.6	0.011
ИУ2 хлМЛОГ	<i>Xgdm93</i>	2D	ЧС	1.6	0.013

семРЛОГ – активность растворимой формы ЛОГ семян; прРЛОГ – активность растворимой формы ЛОГ проростков; прМЛОГ – активность мембраносвязанной формы проростков; листРЛОГ – активность растворимой формы ЛОГ листьев; листМЛОГ – активность мембраносвязанной формы ЛОГ листьев; хлРЛОГ – активность растворимой формы ЛОГ хлоропластов; хлМЛОГ – активность ЛОГ, связанной с мембранами хлоропластов.

НВО – нормальное водообеспечение; ВД – водный дефицит; ИУ – индекс устойчивости.

Растения выращены: 1 – в теплице, 2 – в климатической камере; ПЭГ – проростки выращены на 12% р-ре ПЭГ 6000.

Всего было обнаружено 7 ЛКП с LOD от 1.9 до 2.9, ассоциированных с активностью как растворимых, так и мембраносвязанных форм фермента. За исключением ЛКП для активности ЛОГ семян, все локусы проявились только при неблагоприятных условиях выращивания растений. Кроме того, на 2 и 7 хромосомах генома D пшеницы в условиях засухи были обнаружены несколько локусов для активности ЛОГ с LOD 1.6 и 1.7 (табл. 35). На хромосоме 2D активность растворимой формы ЛОГ хлоропластов была связана с маркером *Xgwm539*, а ИУ мембранной формы хлоропластов – с *Xgdm93*. На хромосоме 7D активности двух мембранных форм листМЛОГ и хлМЛОГ были сцеплены с маркером *Xgdm130*. Как будет показано далее, кластеры ЛКП для нескольких физиологических параметров в условиях засухи оказались ассоциированы с каждым из трех маркеров.

Анализ ЛКП показал, что при засухе в листьях пшеницы активность растворимой формы ЛОГ имела как общий, так и отдельный с активностью мембранной формы генетический контроль. В проростках пшеницы активности мембранной и растворимой форм фермента контролировались независимо, также как, активности растворимой и связанной с мембранами ЛОГ хлоропластов и растворимой ЛОГ семян. Это, вероятно, объясняется их специфическими функциями в условиях водного стресса.

Ко-локализация признаков. Все обнаруженные в данной работе ЛКП для физиологических параметров, включая активность ЛОГ, оказались сгруппированы в кластеры в девяти хромосомных областях генома D, независимо от местоположения выращивания растений и режима водообеспечения (рис. 54).

ЛКП для параметра ЭИВ при нормальном водообеспечении был обнаружен на коротком плече хромосомы 4D в области локуса для активности семРЛОГ. В хромосоме 5D, в районе маркера *Xgwm1122*, были ассоциированы локусы активности растворимой формы ЛОГ проростков при окислительном стрессе и параметры МП, Кар, СЭТ₁₆₀ при водном дефиците в одном из двух местоположений. ЛКП, ассоциированный с активностью мембраносвязанной ЛОГ проростков на коротком плече хромосомы 5D в районе маркера *Xgwm 190* оказался ко-локализованным с тремя параметрами газообмена и ЭФКВ(II) при нормальном водном режиме, ДС в условиях засухи и ИУ нескольких параметров: МП, СЭТ₁₆₀, α , ДС, ККК, МЗК. Центромерная область хромосомы 7D (*Xgwm1002* – *Xgwm111*), кроме активности листРЛОГ и листМЛОГ, была связана с содержанием пигментов при нормальном водоснабжении, параметрами ЭИВ и СА в условиях водного дефицита, а также ИУ СА.

На хромосоме 2D локус для активности листРЛОГ в области маркера *Xgwm102* оказался ко-локализованным с двумя параметрами электронного транспорта, а локус для ИУ

этой формы фермента, связанный с *Xgwm455*, с СЭТ и параметрами газообмена при водном дефиците. С маркером *Xgwm 261* на хромосоме 2D была ассоциирована активность хлРЛОГ в условиях водного дефицита и параметры газообмена листьев в условиях нормального водоснабжения. С маркером *Xgwm539* были сцеплены параметры СТ, УП, ЭИВ, МП и α при водном дефиците в местоположении 2 и их ИУ (кроме ИУ α), а также второй локус для активности хлРЛОГ (LOD 1.6). ЛКП для активности хлМЛОГ (LOD 1.6), сцепленный с маркером *Xgdm93*, был ко-локализован с параметром ЭИВ в условиях водного дефицита во втором местоположении. Этот же параметр ЭИВ ВД2 был картирован на коротком плече хромосомы 7D, ассоциированный с маркером *Xgdm130*, где был ко-локализован с содержанием пигментов в условиях нормального водообеспечения и локусами для активности листМЛОГ и хлМЛОГ.

Таким образом, все выявленные в данной работе ЛКП для параметров газообмена, содержания фотосинтетических пигментов, флуоресценции хлорофилла, массы побега и зерновой продуктивности при водном дефиците, оказались ко-локализованы с ЛКП для активности какой-то из изученных форм ЛОГ.

3.5.3. Картирование активности растворимой липоксигеназы листьев при помощи рекомбинантных замещенных дигапloidных линий пшеницы Саратовская 29/Янецкис Пробат 2А

Изучение ИРЛ ЧС/Син 6х показало, что на хромосоме 2D имеются области, где локализованы ключевые факторы, регулирующие сети функциональных генов, активирующихся в условиях водного стресса (Осипова и др., 2015; Пермякова и др., 2017). Вероятно гомеологичные локусы находятся в геномах А и В. При изучении ЗЛ С29/ЯП ярко проявилось отрицательное влияние на засухоустойчивость сорта Саратовская 29 замещения хромосом второй гомеологической группы от неустойчивого сорта Янецкис Пробат, причем наиболее выраженным был эффект замещения хромосомы 2А (Osipova et al., 2013). Для тонкого картирования локусов, связанных с устойчивостью к водodefициту, на хромосоме 2А в были изучены РЗДЛ Саратовская 29/Янецкис Пробат по хромосоме 2А, генотипированные с помощью 15К чипа.

Было проведено фенотипирование 92 рекомбинантных линий и родительских генотипов, выращенных в контрастных условиях водообеспечения по активности растворимой ЛОГ в листьях, биомассе надземной части побега, активности ферментов аскорбат-глутатионового цикла (супероксиддисмутаза, аскорбат пероксидаза, глутатион редуктаза, дегидроаскорбат редуктаза) и каталазы, параметрам газообмена и флуоресценции

хлорофилла, содержанию фотосинтетических пигментов. Также линии были фенотипированы по некоторым параметрам развития, биометрии и зерновой продуктивности сотрудниками сектора генетики качества зерна ИЦиГ СО РАН. Результаты обнаружили значительную изменчивость среди РЗДЛ по всем изученным признакам (табл. 23 – 25). Это позволило картировать эти признаки на хромосоме 2А. В табл. 36 перечислены ДНК-маркеры, связанные с фенотипической вариабельностью по активности растворимой ЛОГ.

Таблица 36. Полиморфные ДНК-маркеры на хромосоме 2А, ассоциированные с активностью ЛОГ

Маркер	SNP-код	Позиция на хромосоме
BS00078116_51	IWB10990	108.4630
BobWhite_c1049_338	IWB70	108.4630
wsnp_BE406351A_Ta_2_2	IWA70	108.4630
wsnp_Ex_c28204_37349164	IWA3151	108.4630
wsnp_Ex_c2337_4379619	IWA2807	108.6100
Ra_c42714_1137	IWB52068	109.1990
Excalibur_c47535_389	IWB26874	109.1990
Excalibur_c28017_641	IWB24660	109.1990
Ku_c5710_312	IWB39650	109.1990
TA004785-1734	IWB65881.1	149.4660
BS00063368_51	IWB9045	150.1150
Tdurum_contig53038_714	IWB72300	150.2880
Tdurum_contig53038_684	IWB72299	150.2880
RAC875_c27530_860	IWB56077	151.0320
BS00065245_51	IWB9488	151.1940
wsnp_Ex_c3695_6740339	IWA3596.1	151.2920
RAC875_c1706_1888	IWB54406	151.2920
Excalibur_c4372_363	IWB26483	151.2920

Было обнаружено два локуса, объясняющих вариабельность по активности фермента (табл. 36). Один из них, размером 1.8 сМ с фланкирующими маркерами TA004785-1734 – Excalibur_c4372_363, был связан с ферментативной активностью в листьях пшеницы в условиях нормального водообеспечения. Другой локус размером 0.7 сМ был ограничен маркерами BS00078116_51 и Ku_c5710_312 и связан с активностью фермента при водном дефиците. В первом локусе активность ЛОГ при нормальном водообеспечении была локализована с тремя параметрами зерновой продуктивности, а в условиях водного дефицита в этом регионе были картированы ЛКП, ассоциированные с активностью глутатион редуктазы, содержанием хлорофилла В, высотой растения, весом зерна вторичных побегов,

длиной колосоножки и с изменением под влиянием засухи пяти параметров урожая зерна. Второй ЛКП – для активности ЛОГ в условиях водного дефицита ко-локализовался с активностью двух антиоксидантных ферментов, содержанием каротиноидов, ИУ% пяти параметров газообмена и флуоресценции хлорофилла, двух параметров развития, шести параметров компонентов урожая и шести ИУ% параметров компонентов урожая. В этом хромосомном регионе также были картированы ЛКП, ассоциированные с массой побега, тремя фотосинтетическими параметрами, тремя параметрами содержания пигментов фотосинтеза, двумя фенологическими признаками и семью компонентами урожая при оптимальных условиях водоснабжения растений (табл. 37).

В таблице 37 также указаны признаки, картированные в регионе 102 сМ, который очень близко прилегает к региону 108.5 – 109.2 сМ. В условиях нормального водоснабжения этот регион был связан с массой побега, тремя фотосинтетическими, одним фенологическим, одним биометрическим и тремя урожайными параметрами. В условиях засухи в этом регионе были картированы один фотосинтетический параметр, ИУ% четырех параметров фотосинтеза и газообмена, два фенологических признака, а также несколько параметров и ИУ% параметров зерновой продуктивности.

Таблица 37. Ко-локализация ЛКП, ассоциированных с активностью ЛОГ, физиологическими признаками и компонентами урожая на хромосоме 2А пшеницы при разном водообеспечении

Положение на хромосоме 2А, сМ	Картированные признаки	
	Нормальное водообеспечение	Водный дефицит
149.5-151.3	ЛОГ; ВЗВ; ВЗР; М1000з.	ГР; Хл _б ; ДС; ВЗВ; ИУ% – ДлК; ИУ% – МЗК; ИУ% – ВЗВ; ИУ% – ЧЗВ; ИУ% ЧЗР; ИУ%- ВЗР
108.5-109.2	МП; СА; СЭТ; ЭФКВ(II); Кар; Хл _а ; Хл _{а+б} ; ДнК; ДнЦ; ДС; ДлК; ДК; МЗК; ЧЗВ; М1000з; ЧЗР.	ЛОГ; ДГАР; СОД; Кар; ИУ% – СА; ИУ% – СТ; ИУ% – СЭТ; ИУ% – ЭФКВ(II); ИУ% – F ₀ ; ДнЦ; ДнВС; ДС; ККК; Оз; ЧЗР; ВЗР; М1000з; ИУ% – М1000з; ИУ% – ККК; ИУ% – МЗК; ИУ% – КЗК; ИУ% – ЧЗВ; ИУ% – ВЗР
102.0	МП; СА; СЭТ; ЭФКВ(II); ДнК; ДлК; ЧЗВ; М1000; ЧЗР.	ИУ% – СА; ИУ% – СТ; ИУ% – УП; ИУ% – СЭТ; ЭФКВ(II); ДнЦ; ДнВС; ДС; ККК; МЗК; М1000з; ЧЗР; ИУ% – ЧЗР; ИУ% – ВЗВ; ИУ% – ВЗР

ЛОГ, ДГАР; СОД, ГР – Уровень активности липоксигеназы; дигидроаскорбатредуктазы, супероксиддисмутазы, глутатионредуктазы, соответственно; СА – скорость ассимиляции CO₂ или нетто-фотосинтез; СТ – скорость транспирации; УП – Устьичная проводимость; СЭТ – Скорость электронного транспорта; Кар – Содержание каротиноидов; Хл_а – Содержание хлорофилла а; Хл_{а+б} – Содержание общего хлорофилла; F₀ - Базовый выход флуоресценции хлорофилла; ЭФКВ(II) –эффективный фотохимический квантовый выход ФС II; МП – Масса

побега; ДнК – Число дней до кущения; ДнЦ – Число дней до цветения; ДнВС – Число дней до восковой спелости; ДС – Длина стебля; ДлК – Длина колосоножки; ДК – Длина колоса; ККК – Количество колосков главного колоса; КЗК – Число зёрен главного колоса; МЗК – Масса зерна главного колоса; Оз – Озерённость главного колоса; ЧЗВ – Число зёрен вторичных колосьев; ВЗВ – Вес зерна вторичных колосьев; ЧЗР – Число зёрен с растения; ВЗР – Вес зерна с растения; М1000з – Масса 1000 зёрен; ИУ% – индекс устойчивости.

Как видно из таблицы 37, все три хромосомных региона были связаны с отдельными параметрами фенологии, фотосинтеза и компонентов урожая, как при оптимальных водных условиях, так и в стрессовых условиях недостатка влаги. Картированные в этих регионах ИУ% многих признаков, свидетельствует о том, что эти регионы несут генетические факторы, которые влияют на изменение уровня значений многих физиологических и технологических параметров пшеницы под влиянием засухи.

3.5.4. Выявление генов-кандидатов для ЛКП, ассоциированных с активностью растворимой липоксигеназы на хромосоме 2AL

Как сказано в предыдущей главе, с использованием рекомбинантных замещенных дигиплоидных линий пшеницы Саратовская 29/Янецкис Пробат по хромосоме 2A было выявлено несколько кластеров ЛКП. Хромосомный регион 2A 149.5-151.3 сМ был связан с 14 признаками, включая активность ЛОГ при оптимальном водоснабжении пшеницы. Хромосомный регион 2A 108.5 – 109.5 сМ оказался связанным с наибольшим числом (35) физиологических признаков, включая активность ЛОГ при водном дефиците. Хромосомный регион 2A 102 сМ был связан с 21 признаком. Оба очень близко расположенных региона, 2A 108.5 – 109.5 сМ и 2A 102 сМ, включали признаки газообмена, флюоресценции хлорофилла, фенологии, зерновой продуктивности и их индексы устойчивости (табл. 37).

В лаборатории эволюционной биоинформатики и теоретической генетики ИЦиГ СО РАН был проведен биоинформационный анализ этих хромосомных регионов и близлежащих областей для выявления *a priori* кандидатных генов, имеющих отношение к ответу растений на водный дефицит и другие стрессы. Поиск проводили по терминам генной онтологии (GO), связанными с ответом на ограничение воды и окислительный стресс, водным и ред/окс гомеостазом клетки, устьичным комплексом, липидным метаболизмом, регуляцией транскрипции и др. Нами был проведен анализ литературы для расширенного поиска функций белков, кодируемых этими генами, и их взаимосвязи с целью выявления возможных механизмов, определяющих адаптацию пшеницы к водному дефициту, которые связаны с данными хромосомными регионами и определения генов-кандидатов для ЛКП, ассоциированных с активностью ЛОГ. Поскольку многие из выявленных генов не изучены у

T. aestivum L, об их функциях судили по сведениям, имеющимся для *A. thaliana* и других видов.

Регион 2А 149.5 – 151.3 сМ. Хромосомный регион 2А 149.5-151.3 сМ включал 263 гена. В результате поиска по 14 терминам GO было выявлено 35 белок-кодирующих генов, связанных с ответом на водный дефицит. По функциональным характеристикам они четко разделяются на три группы. Первую группу составляют гены 11 факторов регуляции транскрипции разного типа (2 гена факторов ответа этилена, 2 гена факторов ответа ауксина, 2 гена связывания ABRE, по одному гену ABI5, ABI3, MYB1, гистидил-тРНК синтетазы1 и HLH112). Для семи из перечисленных регуляторов транскрипции, имеются литературные сведения об участии в АБК-ЖАК-зависимых путях адаптации растений к засухе (de Ollas, Dodd, 2016; Gahlaut et al., 2016). Вероятно, эти гены могут влиять на регуляцию активности ЛОГ и поэтому они были выбраны нами в качестве кандидатов для ЛКП, ассоциированного с активностью растворимой ЛОГ в регионе 2А 149.5 – 151.3 сМ (табл. 38, № 1 – 7).

Вторая группа генов связана с протеолизом (7 генов: ген субъединицы EХO70, 4 гена цистеин протеаз RD21, 2 гена МАТН-ВТВ).

Экзоцитарный комплекс Eхo70B1 переносит экзоцисты в вакуоль и участвует в связанном с аутофагией эффективном удалении и деградации временно индуцированных стрессовых белков. Eхo70B1 играет положительную роль в АБК-инициированном закрытии устьиц, а его убиквитинизация отрицательно регулирует АБК-опосредованные устьичные движения (Seo, 2016; Kulich, 2013; Zhao et al., 2019).

Цистеиновые протеазы RD21 (responsive to dehydration 21), часто встречаются в литических вакуолях и индуцируются водным стрессом (Koizumi, 1993).

МАТН-ВТВ (BPM) функционируют как субстратные адаптеры к E3-лигазам. Известно, что убиквитинирование является частью многокомпонентной защитной программы, которая координируется в ответ на абиотические стрессы. Изоформы E-box E3 работают как позитивные или негативные факторы в АБК-ЖАК-зависимых защитных механизмах против засухи (Seo et al., 2012; Yang et al., 2017; Serrano et al., 2018). Поэтому два гена семейства МАТН-ВТВ были причислены нами к кандидатам для ЛКП, ассоциированного с активностью ЛОГ в данном хромосомном регионе (табл. 38, № 8, 9).

Третья группа генов региона 2А 149.5-151.3 сМ – это 15 генов, кодирующих ферменты липидного метаболизма, участвующие в перестройке липидного бислоя клеточных мембран и защитной сигнализации при адаптации к стрессу:

5 генов синтазы циклопропановых фосфолипидов (метил-трансфераза ненасыщенных фосфолипидов), добавляющей метиленовую группу в ацильной цепи

фосфотидилэтаноламина, фосфотидилглицерина или фосфотидилинозитола, образуя циклопропановое производное (Thibodeaux et al., 2012);

ген тиоэстеразы ацил-ацильного белка-переносчика (АСР), гидролизующего ацил - тиоэфирные связи, высвобождая СЖК и АСР, представляет собой конечную стадию пути биосинтеза пластидных ЖК (Mayer, Shanklin, 2005; Finzel et al., 2015);

GDSL-подобная липаза/ацилгидролаза4 (SFAR4) усиливает экспрессию генов, участвующих в метаболизме и транспорте ЖК во время прорастания семян и развития проростков (Huang et al., 2015);

АТФ-синтаза, участвующая в связывании липидов (Bonora et al., 2013).

К данной функциональной группе также относятся семь аннотированных гомологов генов, выбранных нами в качестве кандидатов для регуляции активности ЛОГ в этом хромосомном регионе (табл. 38, № 10 – 16):

ген фитолкиназы 1 VTE5 – фермента биосинтеза токоферола, известного ингибитора ЛОГ (Spicher et al., 2017);

3 гена фосфолипазы А2 (ФЛ А₂) опосредующей сигнальные каскады во время развития растений и стресса и дающей начало метаболическим путям ЛОГ (Verlotta et al., 2013);

ген липид-трансферного белка (LTP), патоген-связанный белок PR-14 (Van Loon, Strien, 1999), относится к семейству nsLTP, члены которого участвуют в АБК-сигналинге (Yubero-Serrano et al., 2003), могут образовывать биоактивные комплексы с оксипипинами (Osman et al., 2001b) и быть задействованы в транспорте мономеров кутина для формирования кутикулы (Sterk et al., 1991);

ген сульфотрансферазы 2А, которая участвует в посттрансляционной модификации ЖАК, катализируя сульфонирование гидроксидов ЖАК (Wasternack, Hause, 2013);

ген ацил активирующего фермента 5 пероксисомального (AMP-binding protein 5, ААЕ5), связанный с β-окислением ЖК и, вероятно, с биосинтезом ЖАК и индол-3-уксусной кислоты в пероксисоме (Cassin-Ross, Hu, 2014). Экспрессия этого гена у риса была вызвана салициловой кислотой, бензотиадиазолом, ЖАК и 1-аминоциклопропан-1-карбоновой кислотой, которая опосредует СК- и ЖАК/ЭТ -зависимые сигнальные пути (Zhang et al., 2009).

Кроме вышеперечисленных генов, отнесенных нами трем функциональным группам, в хромосомном регионе 2А 149.5 – 151.3 сМ находятся гены калретикулина1а и белка, содержащего домен NB-ARC и обогащенные лейцином повторы. Последний тоже отнесен нами к кандидатам для активности ЛОГ, так как известно, что белки этого семейства

участвуют в путях взаимодействия ЖАК с другими гормонами (Wasternack, Hause, 2013) (табл. 38, № 17).

Имеющиеся к настоящему времени сведения в литературе о гомологах генов белков, перечисленных выше, свидетельствуют о прямой или косвенной их причастности к механизмам адаптации к стрессу, а также свидетельствуют о функциональной взаимосвязи отдельных белков или их генов. Это позволяет объяснить не случайность ко-локализации перечисленных генов в данном регионе и предположить, что они объединены общей физиологической функцией. Кроме того эти данные дают основание предположить значительное участие оксипинового пути в осуществлении этой биологической функции у растений.

Ниже перечислены некоторые литературные данные о гомологах генов региона 2A 149.5-151.3 сМ, свидетельствующие о взаимосвязи генов, как внутри функциональных групп, так и между тремя группами, а также об их связи с жасмонатным сигналингом:

1. ТФ AREB/ABF могут опосредовать временную и пространственную экспрессию АБК- и водodefицит- чувствительных стрессовых генов RD20, LTP4, и генов ТФ MYB «ниже по течению»: (Yoshida et al., 2010).

2. Экспрессия *ABI5* является результатом действия многих факторов транскрипции, в том числе MYB; *AtMyb7* из подгруппы 4 R2R3 Myb, путем блокирования экспрессии *ABI5* отрицательно регулировал индуцированное АБК ингибирование прорастания семян (Kim et al., 2015) и через *ABI5* участвовал в АБК-опосредованной регуляции солевого и осмотического стресса. R2R3 – ТФ MYB96 является активатором экспрессии *ABI5* и отрицательным регулятором формирования бокового корня в реакции растения на засуху и солевой стресс (Seo et al., 2009).

3. *ABI5* и компонент ЖАК-сигнализации MYC2 находятся под контролем общего регулятора MED25 (Chen et al., 2012). Передача сигналов ЖАК также может изменять экспрессию *ABI5* через активность ТФ WRKY57, и таким образом связывать сигнализацию ЖАК и АБК посредством регулирования *ABI5* (Skubacz et al., 2017).

4. Кинетика накопления *ABI5* с АБК и без нее говорит о том, что *ABI5* обычно недолговечен и подвергается убиквитин-зависимой деградации, опосредованной E3-лигазами. Seo с соавторами (2012) показали, что *ABI5* сам дифференцированно влиял на АБК-зависимую индукцию E3-лигаз *AtPUB18* и *AtPUB19* и / или их ферментативную активность.

5. Недавно было обнаружено, что убиквитинирование E3-лигазой участвует в передаче сигналов АБК, а их целью являются рецепторы АБК, *ABI5*, RD21 и другие компоненты АБК-

сигнализации. Yang и сотрудники (2017) выявили, что белки BPM в качестве субстрат-связывающих адаптеров Ub-Е3-лигазы на основе CUL3, нацелены на деградацию отрицательного регулятора ответов АБК ТФ bZIP АТНВ6, таким образом, играя положительную роль в передаче сигналов АБК. Утилизация цистеиновой протеазы RD21 Е3-лигазой AIPR3, также действовала положительно в сигнализации АБК (Yang et al., 2017).

6. MYB-подобный R2R3-ТФ SRM1 может непосредственно активировать экспрессию как ключевого биосинтетического гена АБК *NCED3/STO1*, так и двух NAC ТФ – известных интеграторов ответных реакций на засуху *RD26* и *ANAC019*. Общий в сигнализации ЖАК и АБК bHLH-ТФ MYC2 может связывать и активировать промоторы этих генов (Zheng et al., 2012).

7. Некоторые гены *MYB*, контролирующие устьичную аппертуру регулируются *AtbHLH112*. *AtbHLH112* индуцировал экспрессию *DREB2A* (DEHYDRATION-RESPONSIVE ELEMENT-BINDING PROTEIN 2A), принадлежащий к семейству ТФ APETALA2 (AP2 / ERF) (Liu et al., 2015). *DREB2A* является ключевым фактором, определяющим экспрессию многих генов-мишеней в ответ на засуху и тепловые стрессы. Отрицательная регулятивная доменная деградации *DREB2A* с помощью BPM-CUL3 Е3-лигазы модулировала термотолерантность у арабидопсиса (Morimoto et al., 2017). Белки BPM, функционирующие в качестве субстратных адаптеров к Е3-лигазе на основе CULLIN3, обладают способностью взаимодействовать с широким спектром ТФ ERF/AP2, что влияет на метаболизм ЖК у растений (Chen et al., 2013).

8. Маео с соавторами (2009) показали, что гены, участвующие в синтезе ЖК в пластидах, включая гены ацил-ацильного белка-переносчика (*ACP1*), относятся к прямым мишеням *WR11* – ТФ семейства APETALA2 (ERF) во время развития семян, тем самым выявив одну из взаимосвязей генов первой и третьей функциональных групп региона 2А 149.5 – 151.3 сМ.

Таким образом, регион 2А 149.5-151.3 сМ включает:

- гены ТФ, известных своим участием и взаимодействием в АБК-зависимых сигнальных путях при засухе, тесно переплетенных с сигнализацией ЖАК;
- гены ферментов липидного метаболизма участвующие в реорганизации клеточных мембран и АБК-ЖАК сигнализации;
- гены, которые могут быть связаны с протеолизом генов этого региона путем убиквитинирования и аутофагии. На этом основании мы предполагаем, что 35 связанных с адаптацией к стрессу генов этого хромосомного региона представляют функциональный

модуль для регуляции АБК-ЖАК сигнальных путей. Среди них 17 генов могут быть связаны с оксипириновым сигналингом и влиять на регуляцию активности ЛОГ.

Регион 2А 99.3 – 115.1 сМ. Биоинформационный анализ проводили для хромосомного региона 2А 99.3 – 115.1 сМ, с захватом областей, примыкающих к регионам локализации двух близко расположенных кластеров ЛКП (102 сМ и 108.5 – 109.2 сМ). В регионе 99.3 – 115.1 сМ, было обнаружено 2272 гена. Для этого региона был проведен биоинформационный поиск по 46 терминам GO и выявлено 130 генов, кодирующих белки, функции которых связаны с ответными реакциями на засуху. Все они могут являться *a priori* кандидатными генами для двух кластеров ЛКП физиологических признаков, идентифицированных нами в этом регионе. Аннотированные гомологи генов, локализованных в позициях 99.3 – 115.1 сМ весьма условно можно разделить на функциональные группы генов, вовлеченных в регуляцию:

- фосфорилирования белков (7 генов протеинкиназ, из них 3 гена фосфотидилинозитолкиназы, по одному гену связанной с клеточной стенкой серин/треонин киназы, циклин-зависимая киназы G2 и сфингозин киназы);

- редокс реакций (26 генов: 4 гена альдегидредуктазы, 4 гена цитохромов P450, 7 генов пероксигеназ, 3 гена тиоредоксинов, по одному гену тиоредоксинредуктазы, 2-цистеин пероксиредоксина В, гамма-гранулин транспептидазы 1, аскорбат пероксидазы 4 и ChaC-подобного белка, протеин дисульфид изомеразы, ЦК-оксидазы/дегидрогеназы, шаперон СОД);

- транспорта (11 генов белков – транспортеров: 2 гена SOS1, 3 гена PIP, 2 гена K⁺-каналов, по одному гену DUF3317, C4-дикарбоксилат-транспортера, EPSIN1, PLP-зависимой трансферазы;

- транскрипции (всего 42 гена ТФ и других регуляторов транскрипции. Среди них гены четырех bHLH, трех MYB, семи ERF, двух MADS-box, по одному гену ARF, NAC 3, GRAS, TFIIH, pTAC5, ORMDL, (ID)-домен 4, семейства белков Patched, DROUGHT SENSITIVE 1, DUF794, LFY, NFYA5, RELA/SPOT, регуляторов ответа 3 и 4, BZR1, GT-1, белка комплекса LSM1-7 и ABI5-связывающего белка. Для 7 из 41 генов имеются сведения об их участии в регуляции транскрипции на уровне хроматина. Это два гена белков, содержащих домен SNF2; ген гистон-деацетилазы 9; ген белка с тетраатрикопептидными повторами и гены четырех ТФ, участвующих в ремоделировании хроматина – TCP, oxidative stress 3 и белка, с доменом GRAM);

- липидного метаболизма (всего 18 генов: по 2 гена ФЛ А, ЛОГ, калеозин-связанных пероксигеназ, гидролаз ЖК CER1; по одному гену сульфотрансферазы,

зеаксантиэпоксидазы, SHV3-подобного 1, сфинголипид-дельта4 деасатуразы, инозитол фосфорилцерамид глюконозилтрансферазы, UDP-гликозилтрансферазы, FAX1, каротин-разрушающей диоксигеназы 7, олеозина 1 и Li-tolerant липазы1).

- деградации белков (4 гена, из них 3 связаны с убиквинированием и 1 ген серин протеазы);

- R-белков (10 генов, из которых 9 генов белков с лейцин-обогащенными повторами);

- фотосинтеза и транспирации (6 генов: криптохрома, Lhcb6, EPF, энхансера АТЕР и два гена PsbQ)

- ремоделирования клеточной стенки (6 генов: 4 гена фениламмоний лиазы, ген целлюлозосинтазы и глицерофосфорил диэфирфосфодиэстеразы).

Анализ функций генов, локализованных в данном районе, показал, что многие гены взаимосвязаны и представляют собой функциональную сеть для перестройки метаболизма растений пшеницы при адаптации к водному дефициту. Основные кандидатные гены для ЛКП, ассоциированных с активностью растворимой ЛОГ листьев в этих хромосомных регионах, представлены в таблице 38 (№ 18 – 52).

Среди аннотированных генов в регионе 2А 99.3 – 115.1 сМ главными кандидатами для ферментативной активности являются гены биосинтеза двух изоферментов ЛОГ (№ 18 и 19), а также фосфолипазы А – фермента, продукты которого дают начало метаболическим путям ЛОГ (№ 20). Вероятно, данный хромосомный регион связан с двумя разными путями липоксигеназного катаболизма ПНЖК.

Присутствие в этой области гена сульфотрансферазы, специфично превращающей 11-ОН-ЖАК и 12-ОН-ЖАК в соответствующие сульфонированные производные (№ 21), свидетельствует о том, что один или оба пути могут быть связаны с биосинтезом ЖАК, которая затем последовательно гидролизует и сульфонируется этой специфической сульфотрансферазой.

Гены двух фосфотидил инозитол киназ (№ 22 и 23) участвуют в метаболических путях полифосфатов инозита. Эти гены были выбраны кандидатами для активности ЛОГ, так как известна важная функция молекул инозитолпирофосфатов в регулировании зависимых от жасмоната ответов. F-box-белок COI1, участвующий в восприятии ЖАК, включает инозитол полифосфат в качестве корцептора (Laha et al., 2015; 2016).

Для сигнального пути ЖАК, описаны две параллельные ветви: ветвь MYC2 и ветвь фактора ответа этилена 1 (ERF1), с маркерным геном *PLANT DEFENSIN1.2 (PDF1.2)* (Pieterse et al., 2012). Среди семи генов факторов ответа этилена в регионе 2А 99.3 – 115.1 сМ,

два гена ERF1 были отобраны нами в качестве кандидатов для регуляции активности ЛОГ (№ 24 и 25).

В данном регионе находятся аннотированные гомологи генов трех калеозин-связанных кальций-зависимых пероксигеназ 2 (№ 26 – 28). Этот белок, являясь частью метаболического пути ЛОГ, участвует в деградации липидов в липидных телах, во взаимодействии между липидными телами и вакуолями во время прорастания семян и в защитных реакциях растений, а также способствует раннему цветению. Например, белок RD20 (отвечающий на дегидратацию 20), который известен как индуцированный стрессом калеозин арабидопсиса, обладающий пероксигеназной 2 и кальций-связывающей активностью. Ген *RD20* участвует в механизмах устойчивости к засухе посредством регулирования устьичной апертуры, роста растений и ЭИВ по АБК-зависимому пути. В последовательности промотора *RD20* чрезмерно представлены ABRE (АБК-отзывчивого элемент) и DRE (отзывчивый к дегидратации элемента), а также сайты связывания ТФ *AtMYC2* (Aubert et al., 2010), выступающего в качестве регулятора при взаимодействии сигнальных путей АБК и ЖАК в условиях засухи (de Ollas, Dodd, 2016).

ТФ TCP участвует в процессах, связанных с ростом, таких как рост листьев, ветвление побегов и морфогенез цветочных органов (№ 29). Было показано, что TCP4 участвовал в контроле биосинтеза ЖАК и старения листьев посредством LOX2. LOX2 также был идентифицирован и как мишень дополнительных TCP, в частности TCP20 (Danisman et al., 2012). Вероятно, ген TCP может влиять на регуляцию активности ЛОГ.

Комплекс WD-повтор / bHLH / MYB действует как важный регуляторный механизм для модуляции накопления антоцианов. Репрессоры ЖАК-сигналинга JAZ-белки напрямую взаимодействуют с членами bHLH (GL3, EGL3 и TT8) и факторами MYB (MYB75 и GL1) комплексов WD-repeat / bHLH / MYB, ослабляют их транскрипционную функцию и впоследствии подавляют биосинтез антоцианинов и инициацию трихом. После деградации белков JAZ в ответ на сигнал ЖАК комплексы WD-повтор / bHLH / MYB высвобождаются, чтобы активировать нижестоящие сигнальные каскады и опосредовать ЖАК-индуцированный биосинтез антоцианина и инициацию трихом (Wasternack, Hause, 2013). В регионе 2A 99.3 – 115.1 сМ было выявлено пять генов, связанных с комплексом WD-повтор / bHLH / MYB (№ 30- 34), которые могут иметь отношение к регуляции активности ЛОГ.

В качестве кандидатных генов для активности ЛОГ в данном хромосомном регионе мы отобрали три гена, связанных с ремоделированием хроматина (№ 35 – 37): ген диацетилазы 9 и два гена субъединицы SNF2 АТФ-зависимого комплекса SWI/SNF. Известно, что HDA9 способствует старению листьев, подавляя экспрессию WRKY57 – негативного регулятора

старения в пути ЖАК (Jiang et al. 2014). SWI / SNF участвуют в регуляции гормонов посредством физического взаимодействия с различными компонентами гормональных сигнальных путей и регуляторов транскрипции генов, участвующих в биосинтезе и восприятии гормонов (Sarnowska et al., 2016). Для транскрипции ЖАК-чувствительных генов необходимо взаимодействие хроматин-ремодулирующего комплекса SWI/SNF с субъединицей 25 Медиаторного комплекса (MED25) (Kazan et al., 2017).

Зеаксантин эпоксидаза – фермент пути биосинтеза АБК (№ 38) может влиять на экспрессию двух ранних ЖАК-реагирующих генов, JAZ1 и JAZ5, участвующих в регуляции негативной обратной связи передачи сигналов ЖАК (Sanchez-Corrigionero et al., 2017). Поэтому ген этого фермента был причислен к кандидатам для активности ЛОГ.

В данном регионе также были обнаружены аннотированные гомологи двух генов альдо-кето редуктазы (№ 39 и 40). Этот фермент, обладая широкой субстратной специфичностью, может трансформировать кетостероиды и липидные альдегиды, образованные в метаболическом пути ЛОГ (Penning, 2015).

Аннотированный гомолог гена кодирующего MAP киназы киназу (№ 41) – участник каскада митоген-активируемой протеинкиназы (МАРК или МРК) и следующий кандидат для активности ЛОГ. Члены каскадов могут активироваться более чем одним типом стресса и выступать в качестве точек пересечения нескольких сигнальных путей. Например, AtMPK6 участвует в сигнальных путях O₃, H₂O₂, этилена, АБК и ЖАК (Sinha et al., 2011). У *A. thaliana*, МКК3 и МРК6 активируются ЖАК, что приводит к отрицательной регуляции экспрессии MYC2 и репрессии генов биосинтеза ЖАК (Takahashi et al., 2007). OPR3 и AOS – ферменты жасмонатного метаболического пути ЛОГ и MYC2 – регулятор транскрипции ЖАК-сигнализации экспрессируются совместно с, MEK1, MEKK1, МКК4 и МРК3 (van Verk et al., 2011).

В регионе 2А 99.3 – 115.1 сМ локализованы 9 генов белков, содержащих повторы, обогащенные лейцином (LRR), восемь из них относятся к семейству белков устойчивости к болезням, содержащих домен NB-ARC (№ 42 – 50). Этот домен является сигнальным мотивом, общим для продуктов генов устойчивости и регуляторов гибели клеток. Многие из NB-LRR-белков, называемых рецепторами врожденного иммунитета являются рецептор-подобными протеин LRR-киназами, играют решающую роль в развитии и стрессовых реакциях, опосредованных фитогормонами, в том числе, ЖАК. Например, взаимодействие LRR PEPR1 с подобным системину пептидом AtPEP1 повышает концентрацию цитозольного Ca²⁺, активирует защитные гены, регулируемые гормонами ЖАК / этилен / салициловая кислота, и индуцируют экспрессию *PDF1.2* – маркерного гена, индуцируемого ЖАК (Liu et

al., 2017). F-бокс белок CO11 комплекса SCFCO11 – рецептора ЖАК-зависимой сигнализации, независимо от ЖАК, участвует в регуляции накопления NB-LRR (He et al., 2012). Таким образом, гены белков, содержащих LRR могут влиять на фенотипическое проявление активности ЛОГ и выступать как гены-кандидаты для ЛКП, ассоциированного с активностью ЛОГ.

В данном хромосомном регионе были обнаружены гены двух ТФ, связанных с регуляцией цветения: AGAMOUS-like 16 и NFYA5 (№ 51 и 52). Известно о ЖАК-зависимом пути регуляции времени цветения с участием AGAMOUS и ауксина (Wasternack, Hause, 2013). Ядерный фактор Y(NF-Y) регулирует цветение путем взаимодействия с CONSTANS – положительным регулятором *FLOWERING LOCUS T*. В свою очередь, позитивным регулятором CONSTANS является регулятор времени цветения ФИТОХРОМ И ВРЕМЯ ЦВЕТЕНИЯ1 (PFT1), известный также субъединица MED25 комплекса Медиатор и посредник транскрипция ЖАК-чувствительных генов (Wasternack, Hause, 2013; Kazan, 2017). Оба гена, AGAMOUS-like 16 и NFYA5, могут влиять на регуляцию активности ЛОГ.

Таблица 38. Функциональная характеристика основных генов-кандидатов для активности ЛОГ, выявленных в двух районах длинного плеча хромосомы 2A

№ п/п	Ген-кандидат	Семейство или функциональная группа	Функция	Лит. ссылка
Район хромосомы 2AL – 149.5-151.3 сМ				
1	TraesCS2A01 G495400	AT3G19290 ABRE связывающий фактор 4 (ABSCISIC ACID RESPONSIVE ELEMENTS-BINDING FACTOR). Относится к семейству факторов транскрипции bZIP (лейциновые застёжки).	ТФ AREB/ABF связываются с элементами ABRE (ABA RESPONSIVE ELEMENT) в промоторной области АБК-чувствительных генов и регулируют их экспрессию для сигнализации АБК-ЖАК в условиях водного стресса.	Yoshida et al. 2010; de Ollas, Dodd, 2016
2	TraesCS2A01 G534200			
3	TraesCS2A01 G534300	AT2G36270 Ген относится к семейству bZIP. ABI5 (ABA Insensitive 5) – ТФ, регулирующий экспрессию генов, содержащих мотив ABRE.	Играет ключевую роль в прорастании семян, раннем росте, фотосинтезе и развитии боковых корней растений под контролем АБК при абиотическом стрессе. Действие ABI5 связано с компонентами сигнальных и метаболических путей ауксина, СК, ГК, БР и ЖАК.	Skubacz et al. 2017

№ п/п	Ген-кандидат	Семейство или функциональная группа	Функция	Лит. ссылка
4	TraesCS2A01 G554200	AP2/B3-подобный, ABI3 (ABA Insensitive 3)	Регулятор перехода от созревания эмбрионов к раннему развитию проростков. Специфический семенной транскрипционный активатор и центральный регулятор в сигнализации АВА и взаимодействии АБК-ЖАК. Участвует в контроле чувствительности хлорофилла и антоцианов к АБК и экспрессии запасного белка 12S.	Riechmann et al., 2000
5	TraesCS2A01 G554200.1	AT5G08520 Относится к суперсемейству гомеодоменов MYB1, MYB-подобный R2R3 фактор транскрипции (с двумя повторами MYB)	Может непосредственно активировать экспрессию ключевого гена биосинтеза АБК <i>NCED3/STO1</i> и генов двух ТФ – известных интеграторов ответных реакций на засуху <i>RD26</i> и <i>ANAC019</i> . Участвует в сигнальных путях, связанных с взаимодействием АБК-ЖАК в ответе на засуху.	Wang et al., 2015; Baldoni et al., 2015; de Ollas, Dodd, 2016
6	TraesCS2A01 G538500.1	AT1G61660 AtbHLH112 относится к факторам транскрипции, содержащим основной спираль-петля-спираль-домен	ТФ HLH участвуют в сигнальных путях АБК-ЖАК в ответе на засуху. Активатор транскрипции, регулирующий экспрессию генов ответа на стресс, включая гены биосинтеза пролина и антиоксидантных ферментов пероксидазы и супероксиддисмутазы для повышения засухо- и солеустойчивости растений.	Liu 2015; de Ollas, Dodd, 2016
7	TraesCS2A01 G547800	AT5G37020 Фактор ответа ауксина 8 ARF8	Опосредует реакцию ауксина через экспрессию генов, регулируемых ауксином. Действует вместе с ARF6 для контроля удлинения тычинки и созревания цветов; ARF6 и ARF8 индуцируют экспрессию генов биосинтеза ЖАК в филаментах.	Wasternack, Hause, 2013

№ п/п	Ген-кандидат	Семейство или функциональная группа	Функция	Лит. ссылка
8	TraesCS2A01 G543300	AT5G19000 (BPM1) AT3G03740 (BPM4)	Функционируют как субстратные адаптеры к E3-лигазам на основе CUL3, участвуя в 26S протеасомной деградации белков в ЭТ/ЖАК-сигнализации. Взаимодействуют с ТФ ERF/AP2, что приводит к убиквитинированию и последующей его деградации.	Weber, 2009
9	TraesCS2A01 G543600	Гены относятся к семейству MATH-BTB (BPM).		
10	TraesCS2A01 G546900.1	AT5G04490 Фитол киназа 1 VTE5 (vitamin E pathway gene 5)	Утилизирует фитольные цепи при деградации хлорофилла. Вовлечена в биосинтез липидных антиоксидантов токоферолов – известных ингибиторов ЛОГ. Повышает устойчивость к комбинированному абиотическому стрессу.	Spicher et al., 2017
11	TraesCS2A01 G543000	T4G22300 Фосфолипаза A ₂ (ФЛА ₂ , фосфатид 2-ацил гидролаза,	Участвуют в различных клеточных функциях, включая реакции растений на ауксин, элиситоры или патогены, абиотические стрессы и мобилизацию липидов во время прорастания семян. PLA ₂ высвобождает линолевую и линоленовую кислоты из фосфо- и галактолипидов клеточных мембран, которые далее метаболизируются с участием ЛОГ до оксипинов.	Verlotta et al., 2013
12	TraesCS2A01 G543100	специфически гидролизует		
13	TraesCS2A01 G543400	глицерофосфолипиды в положении <i>sn</i> -2 для получения свободных жирных кислот и лизофосфолипидов.		
14	TraesCS2A01 G534000	AT5G38160 Бифункциональный ингибитор/липид трансферный белок / семенной запасной 2S альбумин, DIR1	Белок переноса липидов (LTP) участвует в системной приобретенной устойчивости у арабидопсиса. Образование комплекса LTP-ЖАК приводит к конформационному изменению LTP, что облегчает его узнавание рецептором элиситином.	Osman et al., 2001b

№ п/п	Ген-кандидат	Семейство или функциональная группа	Функция	Лит. ссылка
15	TraesCS2A01 G537400	AT5G07010 Сульфотрансфераза 2А действует специфически на 11- и 12-гидрокси-ЖАК (ST2а, тубероновая кислота)	Превращает гидроксиды ЖАК в сульфотированные производные. Реакции гидроксирования и сульфотирования ЖАК могут быть компонентами пути, который инактивирует избыток ЖАК у растений, регулируя уровни ЖАК и / или 12-ОН-ЖАК. Индуцирует образование клубней. Экспрессия гена ST2а кроме 12-ОН-ЖАК может быть опосредована ОФДК, ЖАК и ЖАК-Иле.	Gidda et al., 2016
16	TraesCS2A01 G557100	AT5G16370 Ацил-активирующий фермент 5 (АМР-связывающий белок 5, ААЕ5)	АМР-связывающие белки выполняют функцию защитного ответа посредством взаимодействия СК / ЖАК / ЭТ - зависимых сигнальных путей. ААЕ5 связан с пероксисомальным β-окислением. может действовать как ацид-тиол лигаза, активирующая карбоновые кислоты, образуя ацил-СоА.	Cassin-Ross, Hu, 2014
17	TraesCS2A01 G545300	Белок устойчивости (R-белок) с доменом NB-ARC, содержащий обогащенные лейцином повторы (LRR)	Участвует в распознавании патогенных микроорганизмов и последующей активации врожденных иммунных реакций. Игруют решающую роль в развитии и стрессовых реакциях, опосредованных взаимодействием ЖАК/ Этилен / СК.	Liu et al., 2017
Район хромосомы 2AL – 99.3 – 115.1 cM				
18	TraesCS2A01G 315100	Липоксигеназа 3	Катализируют оксигенацию ПНЖК, что является первым этапом биосинтеза большой группы биологически активных метаболитов ЖК – оксипинов, включая ЖАК. Оксипины участвуют в развитии растений и защитной сигнализации. AtLOX3 проявлял преимущественно активность 13-LOX, однако по отношению к субстрату N-ацилэтаноламину демонстрировал активность 9- и 13-LOX	Bannenb erg et al., 2009; Kilaru et al., 2011

№ п/п	Ген-кандидат	Семейство или функциональная группа	Функция	Лит. ссылка
19	TraesCS2A01 G342100	Липаза/Липоксигеназа семейства PLAT/LH2 Белок, несущий домен PLAT (Полицистин-1, Липоксигеназа, Альфа-токсин и Триацилглицерол липаза)	<i>PLAT1</i> функционирует в качестве положительного регулятора устойчивости к абиотическому стрессу, также способствует росту растений и является прямой мишенью для фактора транскрипции ABF – положительного медиатора сигнального пути АБК.	Hyun et al., 2014
20	TraesCS2A01 G159600	Фосфолипаза А ₂ (Карбоксил эстераза, ФЛА ₂ , фосфатид 2-ацил гидролаза, ЕС 3.1.1.4), специфически гидролизует глицерофосфолипиды в положении <i>sn</i> -2 для получения свободных жирных кислот и лизофосфолипидов.	Продукты ФЛА – предшественники для сигнальных молекул в широком диапазоне физиологических и патологических процессов. ФЛА ₂ высвобождает линолеовую и линоленовую кислоты из фосфо- и галактолипидов клеточных мембран, которые далее метаболизируются с участием ЛОГ до оксипинов. Подтверждено участие генов ФЛА ₂ в адаптации растений к воддефицитному стрессу.	Verlotta et al., 2013
21	TraesCS2A01 G375800	Сульфотрансфераза 2А (ST2a, тубероновая кислота)	Инактивирует избыток ЖАК, регулируя уровни ЖАК и 11- или 12-ОН-ЖАК. Индуцирует образование клубней. ST2a осуществляет связь между метаболизмом сульфата и биосинтезом ЖАК, так как влияет на активность ЛОГ, необходимую для биосинтеза ЖАК.	Gidda et al., 2016
22	TraesCS2A01 G130800	Фосфотидил инозитол монофосфат 5 киназа 4 (АТФ: 1-фосфатидил-1D-мио-инозит-4-фосфат 5 фосфотрансфераза, фосфатидилинозитол-4-фосфат-5-киназа и PIP-киназа)	Участвует в фосфоинозитольной сигнальной системе, регуляции актинового цитоскелета, в эндоцитозе, модификации клеточных стенок, прорастании пыльцы и движении устьиц, а также в метаболизме инозитолфосфата, образующем инозитолпирофосфаты, ключевые кофакторы рецепторного комплекса COI1-JAZ, играющие важную роль в восприятии ЖАК и жасмонатных защитных системах.	Lee et al., 2007; Laha et al., 2016

№ п/п	Ген-кандидат	Семейство или функциональная группа	Функция	Лит. ссылка
23	TraesCS2A01 G184400	Фосфотидил инозитол 4 фосфат 5 киназа (1-фосфотидил инозитол -4-фосфат (PtdIns4P) 5-киназа, PIP5K4, FAB1B)	Участвует в организации эндоплазматической системы, развитии пыльцы, трансдукции сигнала, закрытии устьиц, формировании вакуолей, фосфорилировании фосфотидил инозитола и образовании инозитолпирофосфатов, участвующих в восприятии и сигнализации ЖАК.	Bak et al., 2013; Laha et al., 2016
24	TraesCS2A01 G393500	Фактор ответа этилена 1 (ERF1) семейства ERF/APETALA2(AP2)	ТФ ERF участвуют во взаимодействии сигнальных путей ЭТ, ЖАК, ГК, СК, АБК. Важный транскрипционный репрессор в ответах АВА путем ремоделирования хроматина. Активность MYC2 – основного ТФ в сигнализации ЖАК происходит в конкурентном взаимодействии с ETR1	Wasternack, Hause, 2013; Xie et al., 2019
25	TraesCS2A01 G417300			
26	TraesCS2A01 G367200	Три гена пероксигеназы 2 семейства калеозин-связанных белков, редуктаза гидропероксидов ЖК.	Мембранный белок имеет сходство последовательностей с кальций-связывающими белками калеозинами, участвующими в широком спектре физиологических функций растений, включая реакцию на засуху. Участвует в генерации окисленных ЖК в стресс-сигнальных путях АБК и СК, является частью оксипинового пути ЛОГ, вызванного стрессами, генерирует противогрибковые соединения.	Hanano et al., 2017
27	TraesCS2A01 G367700			
28	TraesCS2A01 G368000			
29	TraesCS2A01 G376000	ТФ семейства TCP (TEOSINTE BRANCHED1, CYCLOIDEA, PROLIFERATING CELL NUCLEAR ANTIGEN FACTOR1)	Содержит консервативный bHLH-содержащий ДНК-связывающий мотив, известный как домен TCP. Регулирует развитие и защиту растений посредством стимуляции биосинтетических путей БР, ЖАК и флавоноидов. Комплекс FOU2/TPC1 был идентифицирован как Ca ²⁺ и потенциал-зависимый вакуолярный катионный канал.	Danisman et al., 2012; Wasternack, Hause, 2013

№ п/п	Ген-кандидат	Семейство или функциональная группа	Функция	Лит. ссылка
30	TraesCS2A01 G409400	ТФ, содержащие основную спираль-петля-спираль-домен (bHLH) bHLH 1	Оба входят в комплекс WD-повтор / bHLH / MYB для регуляции жасмонат-опосредованного накопления антоцианинов и инициации трихом. Взаимодействуют между собой и с GLABRA 1 и 3 (GL1, GL3), TRANSPARENT TESTA GLABRA1 (TTG1)	Wasternack, Hause, 2013; Qi et al., 2011
31	TraesCS2A01 G409600	TRANSPARENT TESTA8 (TT8)		
32	TraesCS2A01 G412800	DROUGHT SENSITIVE 1 (DRS1). Кодирует белок семейства повторов WD	DRS1 способствует устойчивости к засухе, опосредованной АБК и развитию бокового корня. Часть комплекса WD-повтор / bHLH / MYB для регуляции жасмонат-опосредованного накопления антоцианинов и инициации трихом	Qi et al., 2011
33	TraesCS2A01 G164600	Белок, содержащий домен GRAM. Кодирует модулятор экспрессии белка Glabra2 (GL2) (GEM)	Участвует в контроле клеточного деления и дифференцировке эпидермальных клеток корня, поддержании эпигенетического статуса репрессорного гистона H3 промоторов GL, входящего в комплекс WD-повтор / bHLH / MYB. GEM взаимодействует с TTG1 и WD40.	Caro et al., 2007
34	TraesCS2A01 G415400	myb-like НТН транскрипционный регулятор. Кодирует транскрипционный фактор myb R2R3,	Необходим для формирования мужской гаметы. Может быть частью комплекса WD-повтор / bHLH / MYB для регуляции жасмонат-опосредованного накопления антоцианинов и инициации трихом	Wasternack, Hause, 2013
35	TraesCS2A01 G293200	Гистон деацетилаза 9 (HDA9)	HDA9 связывается с промоторами многих генов развития и может быстро индуцировать репрессию их экспрессии в ответ на внутренние и / или внешние сигналы. HDA9 регулирует старение листьев посредством сигнального пути АБК и ЖАК. HDA9 связывает 177 факторов хроматина, в том числе SWI/SNF, АТФ-зависимые геликазы, метил-ДНК-связывающие белки, белки суперсемейства Tudor / PWWP / MBT и белки WD-40.	Chen et al., 2016

№ п/п	Ген-кандидат	Семейство или функциональная группа	Функция	Лит. ссылка
36	TraesCS2A01 G140400	2 гена белка, содержащего домен SNF2 мультибелкового	SWI/SNF необходим для регуляции экспрессии большого числа генов, усиливает или подавляет ген-специфичные ТФ. Положительный регулятор АБК-сигналинга, регулирует экспрессию и активность фотосинтетических и антиоксидантных ферментов. Транскрипция ЖАК-чувствительных генов опосредуется субъединицей 25 Медиаторного комплекса (MED25), которая взаимодействует с SWI/SNF, регулируя архитектуру хроматина.	Sarnowska et al., 2016; Kazan et al., 2017
37	TraesCS2A01 G182200	АТФ - зависимого ремодулирующего хроматин комплекса SWI/SNF		
38	TraesCS2A01 G317000	Зеаксантин эпоксидаза (ZEP) (ABA1)	Играет важную роль в ксантофилловом цикле и биосинтезе АБК. Требуется для устойчивости к осмотическому стрессу и засухе, АБК - зависимому закрытию устьиц, развитию и покою семян, модуляции экспрессии защитных генов, устойчивости к болезням и нефотохимическому тушению хлорофилла. Участвует в регуляции негативной обратной связи передачи сигналов ЖАК.	Sanchez-Corriero et al., 2017
39	TraesCS2A01 G370900	2 гена альдо- кеторедуктаз, относящихся к суперсемейству НАД(Ф)-оксидоредуктаз	Обладает алкогольдегидрогеназной, альдо-кеторедуктазной, стероиддегидрогеназной активностями. Участвует в окислительно-восстановительных процессах и ответных реакциях на стресс. Может функционировать как детоксикант и метаболизировать ненасыщенные альдегиды, образованные ЛОГ.	Penning, 2015
40	TraesCS2A01 G371400			
41	TraesCS2A01 G407600	МАРКК-киназа (МЕКК), киназа киназы митоген-активированной протеинкиназы (МАРК)	МАРК каскады участвуют в биосинтезе ЖАК и выступают в качестве точек пересечения путей сигнальной трансдукции ЖАК и СК.	Wasternack, Hause, 2013

№ п/п	Ген-кандидат	Семейство или функциональная группа	Функция	Лит. ссылка
42 43 44 45 46 47 48 49 50	TraesCS2A01G179 700 TraesCS2A01G184 600 TraesCS2A01G361 000 TraesCS2A01G361 700 TraesCS2A01G384 000 TraesCS2A01G384 100 TraesCS2A01G416 600 TraesCS2A01G421 000 TraesCS2A01G357 100	9 генов белков устойчивости (R- белки) с доменом NB-ARC, содержащих обогащенные лейцином повторы (LRR)	Участвуют в распознавании патогенных микроорганизмов и последующей активации врожденных иммунных реакций. Играют решающую роль в развитии и стрессовых реакциях, опосредованных взаимодействием фитогормонов ЖАК/ этилен / салициловая кислота. Действует как генетический репрессор каскада MEKK1–AtMKK1/AtMKK2–AtMPK4.	Liu et al., 2017.
51	TraesCS2A01 G337900	AGAMOUS-like 16, MADS-box ТФ	Участвует в ЖАК-ауксиновом пути регуляции времени цветения, репрессии экспрессии <i>FLOWERING LOCUS T (FT)</i> и цветочного перехода, а также в развитии устьиц. Мишенью AGAMOUS во время позднего развития тычинки является ген ФЛА <i>DADI</i> .	Wasternack, Hause, 2013
52	TRIAE_CS42_ 2AL_TGACv1 _093509_AA0 281460	Субъединица A5 высоко консервативного гетеромерного гистоноподобного ТФ ядерного фактора Y(NF-Y) (NFYA5)	Y(NF-Y) инициирует фотопериодизированное цветение путем совместного взаимодействия с CONSTANS для управления экспрессией <i>FT</i> в ЖАК-АУК сигнальном пути. Связывается с промоторами генов биосинтеза антоцианинов. Экспрессия NFYA5 регулируется в ответ на АБК и засуху.	Siriwardana et al. 2016.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ

4.1. Изоферменты липоксигеназы *Triticum aestivum* L.

Проведенное нами электрофоретическое исследование энзиматически активных растворимых фракций зрелых семян выявило три молекулярные формы ЛОГ, различающиеся величиной поверхностного заряда молекулы. Было показано сходство электрофоретических спектров у разных генотипов пшеницы, так как эти молекулярные формы присутствовали в образцах всех изученных нами сортов и линий.

Три изоформы ЛОГ семян пшеницы, обладающие липоксигеназной и каротин-обесцвечивающей активностью известны с восьмидесятых годов прошлого века (Hsieh, Mc Donald, 1984). Эти молекулярные формы влияли на качество клейковины (Shiiba et al., 1991). В настоящее время хорошо изучены гены, кодирующие эти изоферменты у тетраплоидной и гексаплоидной пшеницы (Hessler et al., 2002; Carrera et al. 2007; Zhang et al. 2015; Verlotta et al. 2010; Garbus et al., 2009, 2013; Feng et al. 2010, 2012; Geng et al., 2012). Изоферменты семян пшеницы не были предметом наших исследований, так как они уже достаточно хорошо изучены на молекулярном уровне, в отличие от молекулярных форм фермента в других органах и тканях пшеницы. Изучение изоферментного состава ЛОГ в проростках и листьях пшеницы нескольких генотипов в изменяющихся условиях среды представляло значительный интерес, и было выполнено в нашей работе.

Независимо от условий проращивания у трехсуточных проростков культивируемой пшеницы Чайниз Спринг была обнаружена одна растворимая и две мембраносвязанные ЛОГ. У проростков синтетического аллогексаплоида Синтетик 6х выявились три растворимых и три мембраносвязанных молекулярных формы ЛОГ. Синтетик 6х несет интрогрессии *Ae. tauschii*, который имеет расширенный состав семейств генов, связанных с устойчивостью к болезням и абиотическому стрессу (Jia et al., 2013), вероятно, включая и гены изоферментов ЛОГ. Увеличение интенсивности окраски полос трех мембраносвязанных изоформ ЛОГ под воздействием осмотического стресса у Син6х свидетельствует об их вовлечении в защиту от осмотического стресса. Среди выявленных нами растворимых молекулярных форм ЛОГ у проростков, возможно, присутствуют известные изоферменты ЛОГ зрелых семян.

В листьях пшеницы нами было обнаружено не менее одиннадцати молекулярных форм ЛОГ. Их присутствие было разделено фазами развития и клеточными компартментами, различалось у исследуемых генотипов и в зависимости от условий выращивания растений. У синтетической пшеницы выявлялись молекулярные формы двух растворимых и двух

мембраносвязанных ЛОГ, отсутствовавшие у культивируемой пшеницы. В то же время у ЧС присутствовали одна хлоропластная растворимая и две связанные с мембранами хлоропластов молекулярные формы фермента, отсутствовавшие у Синбх.

Вероятно, дополнительные молекулярные формы ЛОГ у синтетической пшеницы привнесены от дикого злака и, как было нами показано, связаны с устойчивостью к абиотическому стрессу.

Об изоферментном составе липоксигеназ листьев пшеницы имеется немного литературных сведений. В листьях пшеницы была обнаружена дифференциальная индукция трех изоферментов ЛОГ под воздействием различных элиситоров (Bohland et al., 1997). Изофермент с молекулярной массой 100 кДа, названный авторами LOX100, был преобладающим в контрольных образцах, а при обработке растений метилжасмонатом, хитин-олигосахаридами и хитозаном его индукция увеличивалась. Однако обработка элиситором Pgt (*Puccinia graminis* Pers. f. sp. *Tritici* Erikss. & Henn) уменьшала индукцию этого белка и вызывала появление двух новых изоформ. В нашем электрофоретическом исследовании в листьях сортов Тулунская 12 и Иркутская, а также синтетической пшеницы Синтетик бх тоже была обнаружена наиболее обильная растворимая молекулярная форма ЛОГ, индукция которой увеличивалась при стрессе (рис. 37, 40). Однако по данным иммуноблоттинга у Синтетика бх молекулярная масса этого изофермента составляла 104 кДа.

Электрофоретическое исследование выявило, что изоферментный состав ЛОГ пшеницы различался в органах растений и клеточных компартментах, а также в зависимости от генотипа, фазы развития и условий среды. Однако молекулярные формы фермента не отличались большим разнообразием молекулярного веса (90, 104 кДа или 115 кДа). Наше исследование показало, что *Triticum Aestivum* L. содержит достаточно большое количество молекулярных форм ЛОГ, но для полной идентификации и «инвентаризации» изоферментов ЛОГ пшеницы необходимо отдельное большое исследование и определение аминокислотных последовательностей всех выявленных нами молекулярных форм фермента.

4.2. Генетическая регуляция активности липоксигеназы пшеницы

4.2.1. Выявление хромосом, участвующих в регуляции активности липоксигеназы пшеницы

Изучение генетического контроля активности ЛОГ при помощи линий пшеницы с межсортовым замещением хромосом, представляет интерес для выявления хромосом,

участвующих в генетической регуляции активности фермента в разных условиях выращивания растений и ее сопряженности с физиологическими и технологическими параметрами пшеницы. Использование ЗЛ позволяет определять хромосомную локализацию генов, как дискретных признаков, так и признаков, проявляющих непрерывную изменчивость. Об эффективности таких исследований свидетельствует выявление ряда хромосом у пшеницы сорта ЧС, ответственных за технологические показатели (Mansur et al., 1990). Межсортовые замещенные линии использовали для выявления хромосом, контролирующей физиологические признаки засухоустойчивости, такие как относительное содержание воды в листьях (Farshadfar et al., 2003). ЗЛ также использовали для изучения генетического контроля осморегуляции (Galiba et al., 1992), устойчивости к токсичности меди (Ganeva et al., 2003) и биотическому стрессу (Simón et al., 2005b).

Hart и Langston установили хромосомную локализацию для двух генетически разных типов липоксигеназы – Lpx1 на хромосомных плечах 4AL, 4BS и 4DS *T. aestivum* и Lpx2 на длинных плечах хромосом 5A, 5B и 5D (Hart, Langston, 1977). Позднее было подтверждено, что генетически обусловленная активность ЛОГ обеспечивается генами шести хромосом 4-й и 5-й гомеологических групп (Li et al., 1999).

С использованием трех серий замещенных линий пшеницы по хромосомам 4-й и 5-й гомеологических групп нами было показано, что наследование активности семенных ЛОГ связано с хромосомами 4-й гомеологической группы и не связано с хромосомами 5-й гомеологической группы (рис. 18 – 22).

Изучение липоксигеназной активности в семенах замещенных линий пшеницы Саратовская 29/Janetzki's Probat по разным гомеологическим группам хромосом выявило, что кроме хромосом 4-й гомеологической группы, другие хромосомы оказывали влияние на фенотипическое проявление активности ЛОГ (рис. 23, 24). Вероятно, многие хромосомы несут гены, ответственные за факторы, влияющие на регуляцию активности этого фермента. Это подтвердилось и при изучении линий Дм/Н67, в которых межсортовое замещение хромосом 1-й и 6-й гомеологических групп на генетическом фоне сорта-реципиента изменяло уровни активности ЛОГ. В обеих популяциях ЗЛ уровни ферментативной активности у отдельных генотипов значительно варьировали в разные годы (рис. 21, 25), однако коэффициент наследуемости признака был достаточно высоким (более 70%).

На примере другой популяции ЗЛ ЧС/Синбх было показано, что эффект замещения по признаку Активность растворимой ЛОГ семян отличался в зависимости от водного режима. При оптимальных условиях он проявился у одной линии - с замещением хромосомы 4D, а в условиях засухи у шести ЗЛ (рис. 30). Наши данные свидетельствуют о том, что многие

хромосомы участвуют в генетическом контроле активности ЛОГ, и о том, что контроль ферментативной активности при водном дефиците более сложный. Это объясняется широким участием ЛОГ в сигналинге, инициирующем защитные реакции, а также в процессах развития растений и формирования зерновки в стрессовых условиях. Возможно, не случайно отдельные ЛКП признаков роста и развития также находятся на этих хромосомах. На хромосомах 1А, 1D и 2В был найден ЛКП для параметра Вес зерна (Varshney et al, 2000), также на 1D и 2В находятся локусы Массы 1000 зерен (Groos et al, 2003). ЛКП для Содержания белка в зерне расположен на хромосомах 3А и 4D (Groos et al, 2003). ЛКП для раннего роста найден на хромосоме 4D (Kulwal et al, 2003). На хромосоме 3В был картирован ЛКП для параметра Количество зерен в 10 колосьях в условиях засухи, на хромосоме 1В – для Длины стебля (Kulwal et al, 2003) и Длины coleoptиле при нормальных условиях и при окислительном стрессе (Landjeva et al, 2008). Это еще раз подчеркивает связь растворимой ЛОГ семян с качеством и продуктивностью зерна пшеницы, как в нормальных условиях, так и при различных видах стресса, в том числе при водном дефиците.

В той же популяции ЗЛ ЧС/Синбх изучали активность растворимой и мембранной ЛОГ в листьях (рис. 45 - 47). Эффект замещения хромосом по активности мембранной формы ЛОГ листьев, проявился у всех ЗЛ, за исключением двух ЗЛ. По активности растворимой ЛОГ хлоропластов и митохондрий (p2ЛОГ) в условиях засухи эффект замещения также был обнаружен у большинства ЗЛ.

Таким образом, на примере нескольких популяций ЗЛ, было показано, что замещение хромосом различных гомеологических групп приводило к изменению активности нескольких изученных форм ЛОГ на генетическом фоне сорта-реципиента, что свидетельствует о причастности многих хромосом к генетическому контролю активности этого фермента. Различия в удельной активности ЛОГ у ЗЛ по разным хромосомам свидетельствуют о существовании множества факторов, обеспечивающих скоординированное функционирование генома пшеницы. По-видимому, отдельные хромосомы сорта-донора несут аллели фермента, не способные компенсировать влияние соответствующих аллелей сорта-реципиента. Полиморфизм по активности ЛОГ оказался связанным не только с хромосомами 4-й и 5-й гомеологических групп, несущими структурные гены этого фермента, но и с другими хромосомами. Это указывает на существование и экспрессию регуляторных генов, модулирующих функциональную активность ЛОГ семян и листьев в разных условиях среды.

Тем не менее, на основе дисперсионного анализа по результатам изучения липоксигеназной активности в трех различных популяциях пшеницы в течение нескольких лет вегетации был показан преобладающий вклад генотипа и меньший вклад средовых факторов в проявление ферментативной активности. Коэффициенты наследуемости в разных популяциях варьировали от 0.71 до 0.81.

4.2.2. Генетическое картирование локусов, ассоциированных с активностью липоксигеназы в геноме пшеницы и выявление генов - кандидатов

Следующий этап изучения генетического контроля активности ЛОГ - исследование линий пшеницы с рекомбинациями генов в этих хромосомах с целью картирования локусов, ассоциированных с ферментативной активностью, а также определение их ко-локализации с физиологическими и технологическими признаками. Для этого были использованы три картирующие популяции рекомбинантных линий пшеницы.

Картирование ЛКП для активности ЛОГ семян с использованием рекомбинантных инбредных линий ITMI. Данные по изучению активности растворимой ЛОГ в семенах РИЛ картирующей популяции ITMI в течение двух лет (благоприятный 2000 г. и засушливый 2003 г.) позволили картировать два локуса ЛОГ (рис. 53). Один главный ЛКП идентифицирован на хромосоме 4В. Этот результат хорошо согласуется с данными, полученными на популяции рекомбинантных инбредных линий твердой пшеницы от скрещивания сортов Jennah Khetifa и Cham1 (Nachit et al., 2001; Hessler et al., 2002). В работе Hessler с соавторами полиморфизм по активности ЛОГ был связан непосредственно со структурным локусом *Lpx-V1* на хромосоме 4В. В этом же районе был позиционирован ЛКП, ответственный за полиморфизм по признаку Стекловидность зерна. В нашей работе ЛКП для активности ЛОГ не был связан со стекловидностью зерна, однако была найдена достоверная корреляция активности ЛОГ с этим признаком в благоприятных условиях 2000 года (табл.29). Li с соавторами (1999) обнаружили в данной хромосомной области кластер трех генов защитного ответа: оксалат оксидазы, хитиназы 2 и регулятора ионного канала - белка 14-2-3. Это может говорить о том, что на хромосоме 4В ген ЛОГ наследуется в тесном сцеплении с генами защитного ответа.

Второй обнаруженный нами ЛКП, проявился только при благоприятных условиях среды и был картирован впервые у пшеницы на длинном плече хромосомы 7В. В сходном положении был ранее локализован ЛКП, связанный с Желтым пигментом муки (каротиноиды) у твердой пшеницы в гибридной популяции Omrabi 5 x *T. Dicoccoides* (Elouafi et al., 2001). Активность ЛОГ в данной работе не изучалась, однако известно, что одной из

функций ЛОГ является разрушение этого пигмента (Lomnitski et al., 1993). Li с соавторами не обнаружили гены ЛОГ на хромосоме 7В, но на длинном плече этой хромосомы они нашли самый большой кластер генов защитного ответа. Возможно, ген ЛОГ на длинном плече хромосомы 7В, обнаруженный нами, тесно сцеплен с генами защитного ответа.

Исследование гомеологии геномов злаков в мире проводится достаточно интенсивно (Appels et al., 2003). Компаративное картирование позволяет подтвердить, уточнить и дополнить свои результаты, а также на уже созданных в природе моделях проследить за реорганизацией генетического материала. Во многих работах по сравнительному картированию отмечается сходство локусов некоторых генов у пшеницы и ячменя (Nelson et al., 1995; Dubcovsky et al., 1996; Snape, 2001).

Интересным является тот факт, что картированные структурные гены ЛОГ ячменя на хромосомах 4Н и 7Н в работе van Mechelen с соавторами (1999), совпадают с найденными нами ЛКП для активности ЛОГ, как на хромосоме 4В, так и на хромосоме 7В. Совпадение локусов ЛОГ у пшеницы на хромосоме 4В и у ячменя на хромосоме 4Н говорит о том, что локус данного структурного гена привнесен в эти виды от одного предка и изоформы фермента, кодируемые этим геном, идентичны у пшеницы и ячменя.

Так как было выяснено, что ген ЛОГ на хромосоме 7Н у ячменя – структурный (van Mechelen et al., 1999), вероятно, длинное плечо хромосомы 7В пшеницы тоже несет структурный ген ЛОГ, ортологичный гену *LOXC* ячменя. В этом случае, возможно, этот ген экспрессируется лишь при определенных условиях и поэтому не был до сих пор идентифицирован. Признак Желтый пигмент (Elouafi et al., 2001), вероятно, либо наследуются сцепленно с ЛОГ, либо проявляется плейотропный эффект одного гена, к которому относятся оба этих признака.

Таким образом, компаративное картирование подтверждает найденные нами локусы ЛОГ на хромосомах 4В и 7В в геноме *T. aestivum* L., показывая сходство этих локусов у мягкой и твердой пшеницы и у ячменя, а также тесное сцепление генов ЛОГ с различными генами защитного ответа.

Картирование ЛКП для активности ЛОГ семян, проростков и листьев с использованием интрогрессированных рекомбинантных линий Чайниз Спринг / Синтетик 6х. На основании данных по вариабельности активности ЛОГ в нескольких белковых фракциях семян, проростков и листьев у ИРЛ ЧС/Син6х в условиях разного водообеспечения нами было обнаружено семь ЛКП с LOD-баллом от 1.9 до 2.9 и три ЛКП с LOD-баллом 1.6 и 1.7 (рис. 54). Все локусы проявились при неблагоприятных условиях выращивания растений. Исключение составляет ЛКП, ассоциированный с активностью

растворимой ЛОГ семян на коротком плече хромосомы 4D, который проявился независимо от условий водообеспечения. Вероятно, этот локус связан с присутствием в данном регионе трех известных структурных генов биосинтеза изоферментов 9-ЛОГ (Feng et al., 2010), и не имеет прямого отношения к засухоустойчивости.

У проростков в условиях, имитирующих засуху, активности растворимой и мембранной форм ЛОГ были картированы в разные области хромосомы 5D на длинном и коротком плечах, что, несомненно, связано различием их физиологических функций. Известно, что один из локусов, ответственных за уровень свободных полярных липидов семян пшеницы *Fpl-1* расположен на коротком плече, в то время как второй локус *Fpl-2* – на длинном плече хромосомы 5D (Morrison et al., 1989). Оба локуса находятся в сходном положении с обнаруженными нами ЛКП для активности растворимой (прРЛОГ) и мембранной (прМЛОГ) ЛОГ проростков. Это свидетельствует о причастности обеих форм фермента к метаболизму полярных липидов при водном дефиците. ЛКП, связанный с активностью растворимой ЛОГ на 5DL, может совпадать с известным структурным геном 13-ЛОГ (Feng et al., 2010) и ЛКП различных параметров развития растений пшеницы (Pestsova et al., 2006). Локус прМЛОГ на коротком плече хромосомы 5D может играть роль в регулировании текстуры эндосперма, его мягкости или твердости. В настоящее время молекулярными маркерами мягкозерности считают расположенные на поверхности крахмальных гранул эндосперма липид-трансферные белки пуриноидолины *Pina* и *Pinb*, которые, как и ЛОГ, обладают сильными антигрибными и антипатогенными свойствами (Pauly et al., 2013). Результаты известных геномных исследований показывают солокализацию генов *Pina-D1*, *Pinb-D1* и *Fpl-2* в главном локусе, контролирующем твердозерность (*Ha*) в дистальном конце хромосомы 5D (Turnbull, Rahman, 2002). В этой же области находится кластер ЛКП параметров текстуры эндосперма и качества клейковины, сцепленный с маркером *Xgwm190* (Nelson et al., 2006). Найденный нами локус для активности прМЛОГ находится в той же позиции и сцеплен с тем же маркером *Xgwm190*. Это может иметь отношение к участию этой формы фермента в определении текстуры эндосперма.

По результатам наших исследований, в листьях пшеницы в условиях засухи активность, как растворимой (листРЛОГ), так и мембраносвязанной (листМЛОГ) формы фермента, была связана с центромерной областью хромосомы 7D, ограниченной маркерами *Xgwm1002* и *Xgwm111*. В том же самом регионе были картированы параметры газообмена пшеницы в условиях водного дефицита, а ранее нами были идентифицированы ЛКП для

главных компонент (PC), а также для активности ферментов аскорбат пероксидазы и дегидроаскорбат редуктазы (Osipova et al., 2015).

Эта область на хромосоме 7D, вероятно, тоже имеет отношение к текстуре эндосперма: ЛКП для мукомольного выхода муки, зависящий от степени твердозерности, был найден в аналогичном положении, сцепленный с маркером *Xgwm 111* (Parker et al., 1999), как и активность листРЛОГ в нашем исследовании. Подтверждением этому служит также то, что в гомеоаллели вариантных форм *Pin b* были обнаружены на всех хромосомах седьмой гомеологичной группы (Chen et al., 2011).

Кроме того, этот хромосомный регион, ассоциированный с активностью листРЛОГ и листМЛОГ, может быть ответственен и за устойчивость к биотическому стрессу: ЛКП устойчивости к *Septoria tritici blotch* был сцеплен с теми же маркерами *Xgwm1002* и *Xgwm 44* (Simon et al., 2007). Все вышеперечисленные сведения свидетельствуют о важности центральной области хромосомы 7D в определении устойчивости и адаптации к разным видам стресса.

На хромосоме 2D было найдено пять областей, связанных с вариабельностью физиологических параметров, включая активность листРЛОГ и ее ИУ%, а также активность растворимой и мембранной хлоропластных форм ЛОГ. Хлоропластные формы ЛОГ были связаны с отдельными маркерами *Xgwm 261*, *Xgwm539*, *Xgdm93*. Другие авторы обнаружили на хромосоме 2D локусы массы 1000 зерен (Groos et al., 2003) и устойчивости к желтой ржавчине пшеницы (Lu et al., 2009), ассоциированные с маркером *Xgwm 261*. В нашей работе (Osipova et al., 2015) в области *Xgwm539* был обнаружен самый большой кластер, включающий ЛКП для разных физиологических параметров, а с *Xgdm93* были связаны параметры газообмена и активность фермента глутатион редуктаза. Интересно, что второй ЛКП для активности этого фермента на хромосоме 2D, сцепленный с маркером *Xgwm102*, совпадает с локусом, ассоциированным с активностью другой формы ЛОГ - листРЛОГ. Ко-локализация уровней активности ЛОГ и ферментов антиоксидантной защиты на хромосомах 2D и 7D, может подтверждать существующие единичные сведения об их совместной регуляции (Bañuelos et al., 2008).

С использованием 206 рекомбинантных инбредных линий WL711/C306 на хромосоме 2D были обнаружены 5 локусов, ассоциированных с физиологическими параметрами и зерновой продуктивностью при разном водном режиме (Shukla et al., 2015). Ориентируясь на молекулярные маркеры, присутствующие и в этой, и в нашей работе (*Xgwm482*, *Xgwm102*, *Xgwm539*), можно предположить, что данные локусы совпадают с обнаруженными нами на хромосоме 2D ЛКП, ассоциированными с активностью ЛОГ. А на хромосоме 7D параметры

зерновой продуктивности в условиях засухи оказались сцеплены с тем же маркером (*Xgwm 111*), что и активность листРЛОГ.

В популяции пшеницы, полученной от скрещивания сорта Принц и линии синтетической пшеницы W-7984, ЛКП компонентов урожая на 2, 4, 7 хромосомах находились в тех же регионах, где обнаруженные нами кластеры ЛКП или были сцеплены с теми же маркерами *Xgwm 539*, *Xgwm 129*, *Xgwm1002* (Huang et al., 2003).

Влияние продуктов активности ЛОГ на процессы развития и старения растений хорошо известно (Wasternack, Hause, 2013). С использованием F_2 и F_3 популяций мутантов было показано, что с маркером *Xgwm 261* был связан ген уменьшенного числа узлов кушения *rnd1*, который в свою очередь тесно связан с геном уменьшенной высоты растения *Rht8*. Ген раннего старения листьев *els* был расположен близко к маркеру *Xgwm 539* (Agarwal et al., 2013).

В настоящее время общепринято, что в ответ на засуху через АБК – зависимые и АБК – независимые сигнальные пути вовлекается большое число транскрипционных факторов, которые принадлежат к мультигенным семействам - AP2/EREBP, bZIP, bHLH, MYB, NAC и WRKY (Gahlaut et al., 2016). ТФ выступают триггерами генных сетей, контролирующими устьичные движения, накопление осмолитов, защитных белков и других ответных реакций, формирующих устойчивость к стрессу. Для пшеницы выявлен ряд ТФ, принадлежащих к различным семействам и придающих устойчивость к абиотическим стрессам (Gahlaut et al. 2016). Многофункциональный ТФ MYC2 семейства bHLH является главным регулятором в большинстве жасмонат-зависимых сигнальных путей, в том числе участвующих в биосинтезе вторичных метаболитов и развитии трихом (Kazan and Manners, 2013). MYC3 и MYC4 усиливают регуляторный эффект MYC2 (Fernández-Calvo et al., 2011). На растениях арабидопсиса было показано, что MYC2 (ген *AtMYC2*) и MYC3 (ген *AtMYC3*) вовлечены в регулируемую абсцизовой кислотой генную экспрессию в условиях засухи (Abe et al., 2003). У пшеницы гены этих ТФ локализованы на хромосомах 2 гомеологической группы, а на хромосоме 2D MYC4 был ассоциирован с маркером *Xgwm 539* (Shoeva et al., 2014b). С этим маркером в нашей работе был сцеплен ЛКП для активности растворимой ЛОГ хлоропластов и других параметров в условиях засухи.

Таким образом, разными авторами с использованием различных картирующих популяций пшеницы в разных условиях выращивания, были выявлены хромосомные области в геноме D для физиологических и технологических признаков, на которые теоретически могла бы влиять активность ЛОГ. Эти области совпадают с обнаруженными нами ЛКП, ассоциированными с активностью отдельных форм фермента.

Анализ ко-локализации ЛКП показал, что при водном дефиците с проявлением физиологических признаков, независимо от различий условий выращивания были связаны определенные районы хромосом генома D. Все выявленные в нашей работе ЛКП, ассоциированные с вариабельностью параметров фотосинтеза, газообмена, биомассы, биометрических показателей или зерновой продуктивности в условиях засухи, в то же время были связаны с вариабельностью активности ЛОГ. Вероятно, эти хромосомные области несут гены метаболических путей липидов или регуляторов транскрипции, инициированных изоферментами ЛОГ, которые крайне важны для устойчивости и адаптации растений пшеницы к стрессу.

Картирование ЛКП для активности ЛОГ листьев с использованием рекомбинантных замещенных дигиплоидных линий Саратовская 29 / Янецкис Пробат по хромосоме 2A. Линия с замещением хромосомы 2A влаголюбивого сорта ЯП на генетическом фоне засухоустойчивого сорта С29 ранее продемонстрировала самую слабую засухоустойчивость (Osipova et al. 2013). Для картирования признаков были использованы созданные на основе ЗЛ С29(ЯП2А) замещённые рекомбинантные дигиплоидные линии (РЗДЛ) по хромосоме 2A. Для молекулярного маркирования РЗДЛ был использован микрочип Wheat 15K (Trait Genetics). Это позволило создать карту хромосомы 2A высокой плотности. Молекулярные карты сцеплений хромосом были использованы для последующей интеграции в нее фенотипических данных. Фенотипический комплекс из морфологических, физиологических и биохимических признаков пшеницы, включая активность растворимой ЛОГ, был изучен в условиях двух водных режимов, при достаточном поливе, и в условиях искусственно создаваемого водного дефицита на ранних этапах развития растения.

Картирование признака Активность растворимой ЛОГ листьев при помощи пшеничной популяции РЗДЛ С29/ЯП2А позволило нам выявить на хромосоме 2A генома пшеницы два локуса (табл. 37), объясняющих вариабельность по активности фермента. В хромосомном регионе 2A 149.5-151.3 сМ был картирован ЛКП для активности ЛОГ при оптимальном водоснабжении, три ЛКП для физиологических признаков при оптимальном водоснабжении и десять ЛКП для признаков в условиях засухи. Хромосомный регион 2A 108.5 - 109.5 сМ включал 16 ЛКП физиологических признаков при оптимальных условиях и 23 ЛКП при водном дефиците, включая ЛКП, ассоциированный с активностью ЛОГ в условиях засухи. В регионе 2A 102 сМ, близко прилегающем к региону 2A 108.5 - 109.5 сМ, были картированы 9 ЛКП для различных признаков при нормальном водообеспечении растений и 15 ЛКП при недостаточном водообеспечении. Кластеры ЛКП включали признаки

газообмена, флюоресценции хлорофилла, фенологии, зерновой продуктивности и их индексы устойчивости (табл. 37).

Ко-локализация многих параметров на небольших участках хромосомы 2А предполагает, что в этих регионах расположены важнейшие генетические факторы, связанные с регуляцией всех этих признаков. В дальнейшем выявление таких факторов с помощью биоинформационного анализа этих хромосомных регионов может пролить свет на функционирование адаптационного механизма растений в условиях недостатка влаги.

Кандидатные гены для регуляции активности липоксигеназы и их место в генной сети гормональной регуляции адаптации пшеницы к засухе. В 2018 году Международный консорциум по секвенированию генома пшеницы (IWGSC) завершил расшифровку генома *T. aestivum* L. (<http://wheatgenome.org/>). Данные секвенирования позволяют проводить детальное генетическое картирование хромосом пшеницы и выявлять гены – кандидаты, которые могут участвовать в контроле полигенных признаков. Секвенирование пшеничного генома предоставило возможность и для выявления кандидатных генов для участия в адаптации к засухе в обнаруженных нами кластерах ЛКП в регионах 149.5-151.3 сМ и 99.3 - 115.1 сМ.

В хромосомном регионе 2А 149.5-151.3 сМ биоинформационным анализом было выявлено 263 гена. Среди них было отобрано 35 аннотированных гомологов белок-кодирующих генов, связанных с ответом на водный дефицит. Выполненный нами анализ функций этих генов определил, что в данном регионе локализованы гены нескольких факторов транскрипции, вовлеченных в АБК –ЖАК зависимые пути адаптации к засухе и ИУК–ЖАК сигналинг; гены, связанные с аутофагией и убиквитинированием белков и гены нескольких ферментов липидного метаболизма.

В регионе 2А 149.5-151.3 сМ находятся гены ТФ, которые связываются с АБК-отзывчивым мотивом ABRE (ABA RESPONSIVE ELEMENT) в АБК - ответных генах, а также гены ABI5 и ABI3 - двух центральных регуляторов в сигнализации АБК. Все четыре ТФ участвуют во взаимодействии сигнальных путей АБК и ЖАК. Регион 2А 149.5-151.3 сМ содержит гены четырех типов ТФ (bZIP AREB/ABF, MYB, bHLH, ERF/AP2) из шести типов ТФ, участвующих в адаптации к засухе (Gahlaut et al., 2016; de Ollas, Dodd, 2016), за исключением ТФ семейств WRKY и NAC. Однако, как было показано, ТФ этих семейств могли быть взаимосвязаны с типами ТФ, гены которых были выявлены в регионе 2А 149.5-151.3 сМ «выше и ниже по течению» (Skubacz et al., 2017; Wang et al., 2017; Cao et al., 2018).

Хорошо известно, что существует значительный уровень взаимодействия между путями передачи сигналов в условиях абиотического стресса с участием двух или более

ТФ. Большая часть ТФ может образовывать гомодимеры или гетеродимеры посредством физических взаимодействий с идентичным белком или другими членами одного и того же семейства или создавать комплексы с ТФ из других белковых семейств, предлагая огромную комбинаторную гибкость во время регуляции транскрипции (Khan et al., 2018).

Нами было выяснено, что регион 2A 149.5-151.3 сМ генома *T. aestivum* L. содержит гены ТФ, которые взаимодействуют между собой в АБК-ЖАК каскадах сигналов водodefицита, чтобы регулировать экспрессию чувствительных к стрессу генов. Однако для эффективного использования генов ТФ в качестве молекулярного рычага для повышения стрессоустойчивости сортов пшеницы необходимо всестороннее понимание и полное выяснение регуляторных сетей ТФ. Результаты анализа функциональной взаимосвязи генов региона 2A 149.5-151.3 сМ, выполненного нами, вносят вклад в решение этой сложной задачи.

Растения имеют многокомпонентные защитные программы, которые координируются в ответ на абиотические стрессы. Функциональные балансы между положительными и отрицательными регуляторами помогают растениям точно реагировать на клеточном уровне на водodefицитный стресс. Белки, участвующие в протеолизе координируются и взаимосвязаны в эффективной защитной сети и для сопутствующего перепрограммирования метаболизма. Путь убиквитинирования критически вовлечен как позитивный и негативный фактор в АБК-ЖАК защитных механизмах против засухи (Seo et al., 2012). Белки, связанные с убиквитинированием и аутосомией и протеаза RD21, гены которых обнаружены в регионе 2A 149.5-151.3 сМ, вероятно, также работают в комбинаторной схеме, чтобы эффективно справляться с дегидратационным стрессом.

В хромосомном регионе 2A 149.5-151.3 сМ были обнаружены 15 генов липидного метаболизма. Среди них семь генов имеют прямое отношение к метаболическим путям ЛОГ и сигнализации ЖАК при стрессе. Это три гена карбоксилэстеразы с активностью фосфолипазы А, по одному гену фитол киназы, липидтрансферного белка DIR1, ацил-активирующего фермента 5 и сульфотрансферазы 2A которые отнесены нами к кандидатным генам для регуляции активности ЛОГ.

Выделение СЖК из липидов мембран фосфолипазой А₂ в условиях стресса согласуется с их ролью в качестве вторичных мессенджеров в липидной сигнализации в реакции растений на неблагоприятные экологические стимулы. Свободный линолеат и линоленат могут метаболизироваться липоксигеназой через октадеканойдный путь до сигнальных оксилипинов. Verlotta с соавторами (2013) выделили четыре полноразмерных экспрессированных последовательности, кодирующие ФЛА₂: TdsPLA2I, TdsPLA2II,

TdsPLA2III и *TdsPLA2IV* (Verlotta et al., 2013) в листьях пшеницы *T. durum*. Под влиянием засухи, как в вегетативной, так и в репродуктивной стадии, накапливались транскрипты *TdsPLA2I* и *TksPLA2III* и, в меньшей степени, *TdsPLA2IV*. *TdsPLA₂I* соответствовали геномным последовательностям на хромосомах 2AL, 2BL и 2DL; *TdsPLA₂II* на хромосомах 4AS, 4BL и 4DL; *TdsPLA₂III* на хромосомах 4AL, 4BS и 4DS и *TdsPLA₂IV* на хромосомах 7AL, 7BL и 7DL. Есть основание полагать, что гены ФЛА₂, выявленные нами в регионе 2A 149.5-151.3 сМ, соответствуют *TdsPLA₂I*.

Было показано, что у арабидопсиса в биосинтезе ЖАК участвует ФЛА₁, а не ФЛА₂ (Wasternack, Hause, 2013). Возможно ген ФЛА₂, обнаруженный в обоих изученных нами хромосомных регионах, связан с синтезом других сигнальных оксипинов, а не ЖАК. Однако присутствие в этих регионах генов сульфотрансферазы, специфично действующей на гидроксиды ЖАК, а также факторов транскрипции, участвующих во взаимодействии ЖАК с другими гормонами, свидетельствует о том, что оба региона содержат компоненты сети регуляции сигнального пути ЖАК.

Кроме того, в регионе 2A 149.5-151.3 сМ находится ген ацил активирующего фермента 5, который с большой вероятностью может быть связан с биосинтезом ЖАК и индол-3-уксусной кислоты в пероксисоме (Cassin-Ross, Hu, 2014) и участвует в регуляции защитного ответа через СК- и / или ЖАК/ ЭТ - сигнальные пути (Zhang et al., 2009).

Ген липид-переносящего белка (LTP), относится к белкам PR-14, связанных с устойчивостью к патогенам (Van Loon, Strien, 1999). Он образует биоактивные комплексы с оксипинами пути ЛОГ (Osman et al., 2001b), задействован в транспорте мономеров кутина во время формирования кутикулы (Sterk et al., 1991); он может участвовать как в жасмонатном, так и в пероксигеназном метаболических путях ЛОГ.

Другим важнейшим геном липидного метаболизма, выявленным нами в регионе 2A 149.5-151.3 сМ является ген фитолкиназы. Фитол, составляющий треть массы хлорофилла, обычно считается самым распространенным ациклическим изопреноидным соединением в биосфере. Являясь гидрофобным мембранным якорем хлорофилла на фотосинтетической мембране, он играет важную роль в сборке, структуре и функции реакционных центров фотосинтеза растений. Фитол также является составной частью токоферолов, которые в совокупности составляют витамин Е. В фотосинтезирующих организмах свободный фитол образуется при катаболизме хлорофилла (Valentin et al., 2006).

Известно, что в деградации хлорофиллов участвует ЖАК. Экспрессия нескольких ключевых ферментов, участвующих в расщеплении хлорофилла, индуцировались ЖАК.

Было обнаружено, что ЖАК вызывает репрессию активации RUBISCO (van der Graaff et al., 2006).

Утилизация фитольных цепей при деградации хлорофилла является источником субстрата для фитолкиназы. Фитолкиназа играет важную роль в утилизации фитола и биосинтезе токоферола (Spicher et al., 2017). α -Токоферол предотвращает неспецифическое, радикально-опосредованное пероксидирование ПНЖК. Он функционирует в рамках большой антиоксидантной сети для модуляции продукции и / или функции липидных медиаторов, полученных активностью ЛОГ (Lebold, Traber, 2014). α -Токоферол также ингибирует активность ЛОГ формированием комплекса α -Токоферол-ЛОГ (Grossman, Waksman, 1984).

Фитолкиназа влияла на липидный профиль, углеродный обмен и фотосинтез у растений томата. Дефицит этого фермента приводил к дефициту токоферола и, как следствие, к более высокому накоплению крахмала в зрелых листьях, что коррелировало с более низкой степенью ассимиляции CO_2 и снижением эффективности работы PSII. Дефицит фитолкиназы вызывал изменения в составе липидов мембран, изменяя соотношение содержания линолевой (18: 2) линоленовой (18: 3) кислот, служащих субстратом ЛОГ. Таким образом, у растений токоферолом мог быть опосредовано взаимодействие между путями метаболизма липидов и углерода (Almeida et al., 2017).

В регионе 2A 149.5-151.3 сМ нами также был обнаружен ген тиоэстеразы ацил-ацильного белка-переносчика (ACP), которая гидролизует ацил-ACP-тиоэфирные связи, высвобождая СЖК и ACP. Активность этой тиоэстеразы представляет собой конечную стадию пути биосинтеза пластидных ЖК. Полученные СЖК поступают в цитозоль, где они этерифицируются в коэнзим А и далее метаболизируются в мембранные липиды и / или хранятся как триацилглицерины (Mayer Shanklin, 2005). Однако недавно было сообщено, что некоторые тиоэстеразы, в дополнение к гидролитической активности, имеют и другие активности, в том числе активности протеазы и лизофосфолипазы. Они также способны гидролизовать лизин-глицин амидные связи в убиквитинированных белках (Chisuga et al., 2017). Кроме того, было показано, белок ACP являлся мишенью ТФ семейства ERF/AP2 (Маео et al., 2009), ген которого также обнаружен в регионе 2A 149.5-151.3 сМ. Несомненно, что ген тиоэстеразы ACP вовлечен в общую комбинаторную генную сеть данного хромосомного региона. Хотя он не представлен нами как кандидатный ген для активности ЛОГ, вероятность его взаимосвязи с метаболическими путями ЛОГ достаточно велика.

Неожиданным для нас было обнаружение в регионе 2A 149.5-151.3 сМ пяти генов метил-трансферазы ненасыщенных фосфолипидов, образующей циклопропановые ЖК

(CFA) и называемой также синтазой CFA (CFAS). Циклопропановые ЖК очень широко распространены и изучены у бактерий (Courtois et al., 2004). Было показано влияние гена, кодирующего CFAS на форму клеток и кислотоустойчивость бактерий. Потеря активности CFAS обусловлена протеолитической деградацией, зависящей от экспрессии регулона теплового шока, то есть деградация CFAS являлась частью реакции теплового шока (Chang et al., 2000). Предполагается, что CFAS участвует в метилировании, биосинтезе липидов, транспорте электронов (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/IEB/Research/Assembly/av.cgi?db=ara&q=AT3G23510>). Возможно, по аналогии с бактериями, у пшеницы экспрессия и деградация CFAS является важной и необходимой частью защитной программы в ответ на абиотический стресс и этим обусловлено присутствие пяти генов CFAS в данном хромосомном регионе.

Клеточные мембраны должны адаптироваться к различным средам. Мембрана может быть реконструирована непосредственно путем модификации липидов, встроенных в двухслойный слой. Вероятно, все гены липидного метаболизма региона 2A 149.5-151.3 сМ связаны с перестройкой клеточных мембран и являются участниками генной сети для перестройки метаболизма растений пшеницы под влиянием засухи.



Рис. 55. Гипотетическая схема функционального взаимодействия генов региона 2AL 149.5-151.3 сМ для транскрипционного регулирования АБК-ЖАК сигнальных путей при адаптации растений пшеницы к засухе.

АБК – абсцизовая кислота, AAE5 - ацил-активирующий фермент 5, ЖАК – жасмоновая кислота, ЛОГ – липоксигеназа, LTP – липид-трансферный белок, ST2a - сульфотрансфераза2, ТФ - транскрипционные факторы, ФЛ A₂ - фосфолипаза A₂.

Таким образом, регион 2A 149.5-151.3 сМ содержит гены ТФ АБК-ЖАК сигнальных путей, связанные с ними гены ферментов липидного метаболизма и белки, участвующие в их регуляции путем протеолиза. На основании анализа известных литературных сведений мы предполагаем, что гены региона 2A 149.5-151.3 сМ объединены функцией регуляции АБК-ЖАК сигнальных путей и этот хромосомный регион функционирует как регуляторный локус транскрипционного контроля (рис. 55). В виду тесного переплетения АБК и ЖАК сигнальных путей, индуцирующихся при засухе (de Ollas, Dodd, 2016) по меньшей мере, 17 генов этого региона были определены нами как кандидаты для регуляции активности ЛОГ. Исключение составили гены аутофагии, протеазы RD21, тиоэстеразы ACP и CFAS, так как в литературном поиске нами не было обнаружено данных, свидетельствующих о связи этих генов с оксипиновым сигналингом.

Необходимо отметить, что многие гены региона 2A 149.5-151.3 сМ могут участвовать в сигнальных путях, связанных со старением. Старение листьев является уникальной программой развития растений. У растений старение может быть вызвано неблагоприятными условиями окружающей среды, такими как темнота или засуха. В контроле старения главная роль принадлежит гормонам. Отдельные и совместные молекулярные пути ЖАК, АБК, ЦК, этилена, ауксина и СК в регуляции старения растений уже подробно описаны и показано, что факторы транскрипции являются центральными элементами сетей, регулирующих старение. Было обнаружено, что значительное количество генов ТФ, индуцируемых старением, индуцируются также абиотическим стрессом (Balazadeh et al., 2010; Khan et al., 2014). Среди них гены ТФ семейств MYB, bHLH, VZIP и Ar2/EREBP, обнаруженных в регионе 2A 149.5-151.3 сМ.

Su с соавторами (2016) выявили положительную роль ABI5 (одного из ТФ в регионе 2A 149.5-151.3 сМ) в старении листьев при сигнализации АБК за счет его негативного воздействия на процесс фотосинтеза. Он может быть мишенью действия ТФ WRKY, в том числе WRKY53, индуцируемого старением. Маркерный ген старения SAG12 кодирует цистеин протеазу и тоже находится среди мишеней WRKY53. Было обнаружено, что индуцируемый ЖАК белок, регулирующий старение ESR/ESP (EPITHIOSPECIFYING SENESCENCE REGULATOR) взаимодействует с WRKY53, а экспрессия генов ESR/ESP и WRKY53 антагонистически регулируется ЖАК и салициловой кислотой (Miao et al., 2007). Van der Graaff с соавторами (2006) показали, что во время старения листьев кроме активации генов фитогормонов, включая 4 гена ЖАК, происходит активация четырех генов, связанных с аутофагией, и что аутофагия очень важна для эффективной ремобилизации и утилизации питательных веществ. В регионе 2A 149.5-151.3

cM нами обнаружен ген Eho70B1, связанный с аутофагией, гены TF ABI5 и цистеин протеазы. Это является еще одним аргументом в пользу нашего предположения, что регион 2A 149.5-151.3 cM связан с регуляцией гормонального ответа на водный дефицит с пересечением ответа на старение или частично общих путей ответа.

В другом хромосомном регионе 2A 102 - 109.5 cM нами были выявлены два близко расположенных кластера ЛКП, где оказались ко-локализованы многие физиологические признаки пшеницы при водном дефиците, включая активность ЛОГ. Здесь также были картированы ИУ% многих параметров, т.е. этот регион оказался связанным с изменением параметров под влиянием засухи (табл. 37). Биоинформационным анализом в этом регионе и близлежащих областях, охватывающий интервал 99.3 - 115.1 cM, было обнаружено 2272 гена. По 46 терминам GO было выявлено 130 генов, связанных с ответом на засуху

На сегодняшний день десатурация мембранных липидов, активация акцепторов реактивных электрофилов, индукция молекулярных шаперонов, накопление совместимых растворенных веществ и укрепление кутикулы, выделяют в качестве наиболее общих и консервативных реакций клеток растений на абиотические стрессы, в том числе на засуху (He et al., 2018; Bechtold, Field, 2018). Кроме того, отмечена незаменимая роль клеточной стенки в восприятии абиотического стресса и сложной взаимосвязи между восприятием ее целостности и тургора и сигнальными путями, задействованными в ответе на стресс, которые в конечном итоге реконструируют клеточную стенку (Novaković et al., 2018). Было показано, что в стрессовых условиях эти защитные механизмы контролируются сложной регуляторной сетью, включающей в себя различные сигнальные молекулы, гормоны и транскрипционные факторы (He et al., 2018; Bechtold, Field, 2018). Важную роль в защитных реакциях растений играют эпигенетические механизмы регуляции экспрессии генов (Pandey et al., 2016).

Анализ функций выявленных в регионе 2A 99.3 - 115.1 cM генов показал, что они тесно взаимосвязаны и представляют собой функциональную сеть для транскрипционной перестройки регуляции метаболизма растений пшеницы при адаптации к водному дефициту. Многие гены-кандидаты для адаптации к засухе региона 2A 99.3 - 115.1 cM упомянуты He с соавторами (2018), Novaković с соавторами (2018) и другими авторами как участники консервативной генной регуляторной сети при стрессе.

Среди генов – кандидатов для регуляции адаптации к засухе в этом хромосомном регионе 2 гена были связаны с биосинтезом ЛОГ и, по меньшей мере, 33 гена могут быть связаны с регуляцией активности растворимой ЛОГ листьев в разных условиях выращивания.

ЛОГ катализирует образование гидропероксидов ЖК, дающих начало многим путям метаболизма липидов, участвуя в широком диапазоне биохимических и молекулярных процессов, в том числе пути биосинтеза фитогормона ЖАК (Wasternack, Hause, 2013). Среди аннотированных генов в регионе 2А 99.3 - 115.1 сМ главными кандидатами для ферментативной активности являются гены биосинтеза двух изоферментов ЛОГ (ЛОГ3 и ЛОГ семейства PLAT/LH2), представляющие два разных метаболических пути ЛОГ а также фосфолипазы А – фермента, продукты которого дают начало метаболическим путям ЛОГ; калеозин-связанной пероксигеназы 2 – фермента пероксигеназного пути ЛОГ и сульфотрансферазы 2А, специфически сульфонирующей продукты жасмонатного пути ЛОГ гидропероксиды ЖАК.

По меньшей мере, еще для 26 генов, локализованных в данном регионе, имеются литературные сведения о связи с оксипиноловым сигналингом, что позволяет отнести их к кандидатным генам для регуляции активности фермента. Среди них гены метаболических путей полифосфатов инозита, факторов ответа этилена, ТФ TCP, ТФ комплекса WD-повтор / bHLH / MYB, субъединицы хроматин-ремоделирующего комплекса SWI/SNF и диацетилазы 9, зеаксантин эпоксидазы, альдо-кето редуктазы, MAP киназа киназы киназы, а также белков, содержащих повторы LRR и ТФ, связанных с регуляцией цветения AGAMOUS-like 16 и NFYA5 (табл. 23).

Среди генов–кандидатов для регуляции активности ЛОГ в регионе 2А 99.3 - 115.1 сМ особое внимание следует уделить двум генам метаболических путей полифосфатов инозита. Генерация большого разнообразия моно- и пирофосфорилированных инозитов требует серии консервативных липаз, фосфатаз и киназ. Среди генов, обнаруженных в регионе 2А 99.3 - 115.1 сМ, присутствуют гены двух фосфотидил инозитол киназ. Для протеинкиназ, фосфолирующих инозиты, было показано участие в опосредованном ЖАК ответе растений на стресс (Laha et al., 2015).

Высоко фосфорилированные, растворимые инозиты представляют собой группу вторичных мессенджеров с фундаментальным значением во многих клеточных процессах, таких как поддержание теломер, рибосомный биогенез, апоптоз, экспрессии генов на уровне транскрипции, ремоделирования хроматина, редактирования и экспорта мРНК. Известны регуляторная роль фосфоинозитидов в мембранном траффике, а также их потенциальный вклад в синтез и ремоделирование клеточной стенки (Krishnamoorthy et al., 2014). Инозиты модулируют функцию белков как важные кофакторы, триггеры аллостерических или индуцированных структурных изменений. Известна важная функция инозитол-пирофосфатов и в регулировании зависимых от жасмоната ответов. F-box-белки,

участвующие в восприятии ЖАК (COI1) и ауксина (TIR1), включают инозитол полифосфаты в качестве корецепторов (Laha et al., 2016). Считают, что восприимчивость многих гормонов регулируется молекулами, образованными инозитолом (Sheard et al., 2010).

Одним из важнейших кандидатов для регуляции активности ЛОГ являются два гена ТФ ERF1, с которыми может быть связана параллельная MYC2 ветвь сигнального пути ЖАК и взаимодействие с сигналингом этилена (Pieterse et al., 2012).

В регионе 2A 99.3 - 115.1 сМ нами было выявлено пять генов, которые могут входить в комплекс WD-повтор / bHLH / MYB, участвующий в жасмонатной регуляции формирования трихом и образования антоцианов (Qi et al., 2011). Накопление флавоноидных пигментов является важным фактором для адаптации к стрессу и, вероятно, данный регион связан с регуляцией их биосинтеза, что подтверждается также присутствием в этом регионе генов биосинтеза антоцианов UDP-Glc: флавоноид-3-глюкозилтрансферазы и фенилаланин-аммоний-лиазы (ФАЛ).

ФАЛ также участвует в первом этапе биосинтеза лигнина и ремодулировании клеточной стенки в условиях стресса. ЖАК и продукт гидропероксидлиазного пути ЛОГ транс-2-гексенал инициируют экспрессию генов ФАЛ (Moore et al., 2003; Koshio et al., 1995). Одним хорошо документированным ответом растений во время абиотического и биотического стресса является эктопическое отложение лигнина. Совместная активность ФАЛ и апопластических пероксидаз (гены семи пероксидаз локализованы в регионе 2A 99.3 - 115.1 сМ) важна как для образования, так и для сшивания фенольных соединений, в клеточной стенке. Сигнальные пути ЖАК и брассиностероидов (в регионе 2A 99.3 - 115.1 сМ выявлено несколько генов метаболизма БР), пересекаемые с путями сенсоров целостности клеточной стенки и путями, связанными с АФК, непосредственно участвуют в ремоделировании клеточных стенок, вызванных абиотическим стрессом (Novaković et al., 2018).

В качестве основного интерфейса между растением и окружающей средой служит кутикула, которая играет решающую роль в ограничении потоков жидкости и газа, защите от патогенных и насекомых и сопротивлении различным абиотическим стрессам. Было показано, что сверхэкспрессия 3-кетоацил-КоА-синтазы CER6 и ацил-КоА-редуктазы (FAR), связанных с образованием кутикулярных восков, является неспецифической реакцией при стрессе, а метилжасмонат является одним из регуляторов экспрессии этих белков (He. et al., 2018). Гены обоих белков присутствуют в регионе 2A 99.3 - 115.1 сМ. Известно также, что гидрокси- и эпокси-производные ЖК пероксигеназного пути ЛОГ участвуют в синтезе мономерных субстратов гетерополимера кутина (Тарчевский, 2001). Вероятно, оба

липоксигеназных метаболических пути, жасмонатный и пероксигеназный, принимают участие в формировании кутикулы растений.

Растения должны выдерживать самые разнообразные экологические стрессы, оставаясь в одном и том же месте обитания на протяжении всего жизненного цикла. Поэтому они развили множество сложных механизмов, которые включают действия гиббереллина, АБК, этилена и жасмоната и других гормонов. Интенсивное взаимодействие между сигнальными путями, индуцированными гормонами стало важным механизмом регулирования в динамических экологических условиях, благодаря которому растение может адаптировать свой ответ к типу испытываемого стресса или их сочетанию для достижения баланса между ростом и защитой (Huot et al., 2014; Li et al., 2017). Функциональная взаимосвязь генов, локализованных в регионе 2A 99.3 - 115.1 сМ, выявленная нами в результате анализа известных литературных сведений, свидетельствует о взаимодействии гормонов ЖАК, АБК, ауксин, этилен, салициловая кислота, гиббереллин и brassinosteroid.

Помимо ЖАК, основные рецепторы для ряда других гормонов растений, включая ИУК, гибберелловую, абсцизовую и салициловую кислоты, локализируются в ядре и непосредственно связаны с транскрипцией гена, регулируемого гормоном (An et al., 2017). Восприятие и сигналинг гормонов регулируются системой убиквитин-протеасомной деградации белков. F-box- белки являются частью рецепторных SCF – комплексов, действующих как убиквитин-лигаза. Для некоторых ответов роль SCF заключается в деградации репрессоров гормонального ответа (ауксин, ГК и ЖАК), тогда как в ответ на этилен SCF деградирует положительные регуляторы в отсутствие гормона (Moon et al., 2004). SCF – комплекс служит центральным регулятором в жасмонатном восприятии и сигнализации (Wasternack, Hause, 2013). Два гена MATH-BTB, связанные с убиквинированием, локализованные в исследуемом хромосомном регионе могут быть вовлечены в регуляцию перцепции и сигнализации ЖАК.

Скоординированные эпигенетические регуляторные события, такие как модификации гистонов и ремоделирование хроматина, являются неотъемлемой частью сигнализации ЖАК. У арабидопсиса хроматиновые модификации, выполненные гистондеацетилазами HDA6 и HDA19 лежат в основе подавления экспрессии ЖАК-отзывчивых генов (Wasternack, Hause, 2013). Вероятно гены субъединицы хроматин-ремоделирующего комплекса SWI/SNF и диацетилазы 9, локализованные в регионе 2AL - 99.3 - 115.1 сМ, осуществляют тонкую связь между восприятием ЖАК-Иле и перепрограммированием транскрипции в пшеничном геноме.

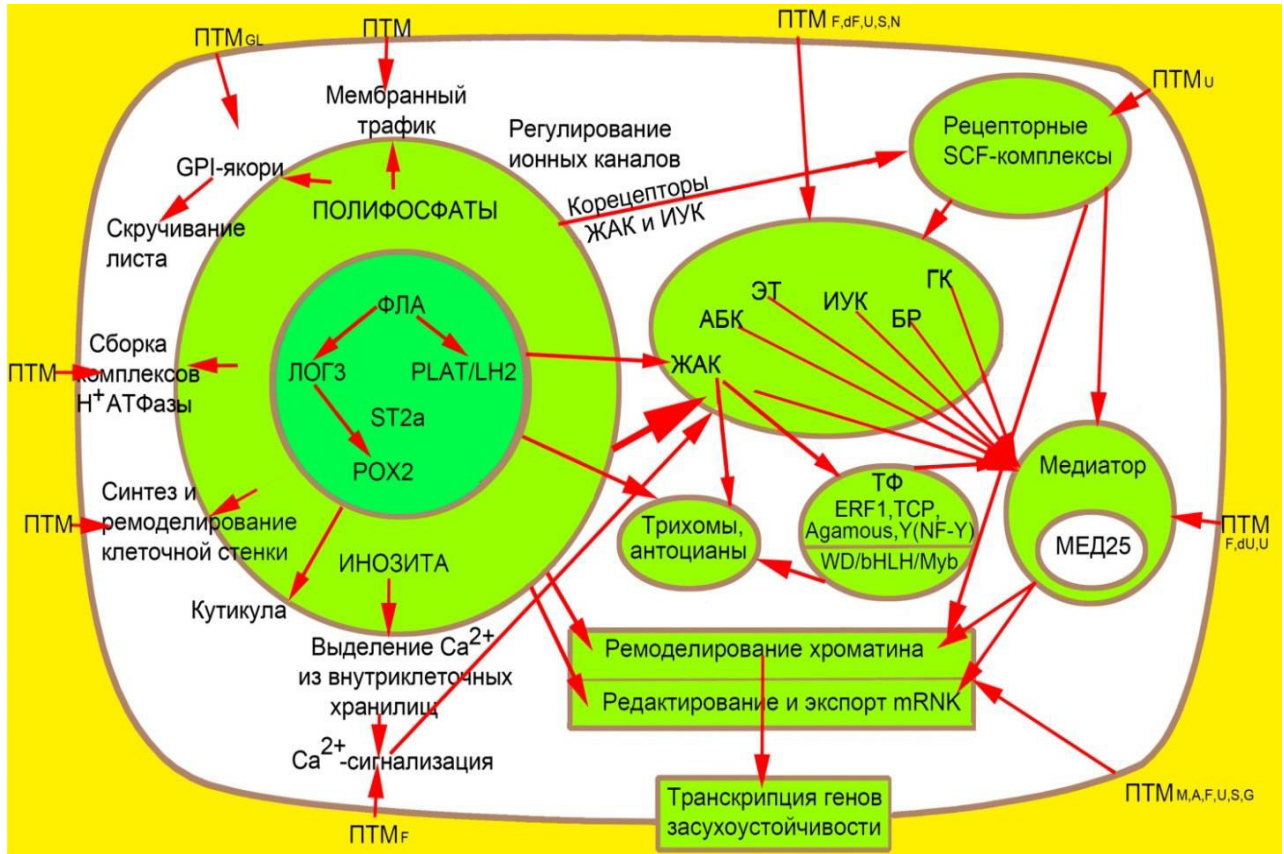


Рис. 56. Гипотетическая схема функционального взаимодействия генов региона 2AL – 99.3 – 115.1 сМ для транскрипционного перепрограммирования при адаптации растений пшеницы к засухе

АБК – абсцизовая кислота; БР – брассиностероиды; ГК – гибберелловая кислота; GPI – гликозилфосфатидилинозитол; ЖАК – жасмоновая кислота; ЛОГ3 – липоксигеназа 3, ИУК – индолилуксусная кислота; SCF- комплекс: белок, связанный с S-фаза-киназой1, куллин и F-box-белок; PLAT/LH2 – липаза/ЛОГ с доменом PLAT (Полицистин-1, Липоксигеназа, Альфа-токсин и Триацилглицерол липаза), РОХ – калеозин-связанная пероксигеназа 2, ST2a – сульфотрансфераза2, ФЛА – фосфолипаза А; ЭТ – этилен.

PTM – посттрансляционные модификации белков: А – ацетилирование, G – гликолизирование, GL – гликолипирование, F – фосфорилирование, dF – дефосфорилирование, M – метилирование, N – S-нитролизирование, S – сумоилирование, U – убиквитинирование, dU – деубиквитинирование.

Недавно было выяснено, что точкой взаимодействия нескольких гормональных сигнальных путей на транскрипционном уровне является многосубъединичный комплекс Медиатор. Он изменяет архитектуру хроматина и связывает ТФ с РНК РoIII во время транскрипции, являясь важным регулятором экспрессии генов (Allen and Taatjes, 2015). Одной из субъединиц Медиаторного комплекса является MEDIATOR25 (MED25), которая выполняет разнообразные регуляторные функции. MED25 является общим компонентом сигнализации ЖАК, ауксина, этилена и АБК, модулирует цветение, позитивно регулируя CONSTANS, и дифференциально регулирует транскрипционные ответы на множественные эндогенные и экзогенные сигналы (Kazan, 2017). Кроме того было показано, что MED25

позитивно регулирует пероксидазы класса III и отрицательно регулирует NADPH оксидазы, изменяя окислительно-восстановительный потенциал клеток (Sundaravelpandian et al., 2013).

MED25 также отрицательно регулирует транспорт ауксина, (Raya-Gonzalez et al., 2014), вовлечена в формирование клеточной стенки, а также антоциановые, флавоноидные и глюкозинолатные пути (Seguela-Arnaud et al., 2015). (Kazan, 2017). MED25 напрямую связывает рецептор ЖАК-Иле с транскрипционно активным хроматином во время активации MYC2, вызванной гормонами АБК и ЖАК (An et al., 2017).

Перечисленные выше функции MED25 позволяют предположить, что она связана с транскрипционной регуляцией многих генов-кандидатов для адаптации к засухе, локализованных в регионе 2A 99.3 - 115.1 сМ. Однако ген MED25 не был выявлен в данном хромосомном регионе по использованным нами терминам генных онтологий. Возможно, для его выявления необходим более широкий набор терминов GO, или он относится к числу не идентифицированных генов, или находится за рамками изученного региона генома *T. aestivum*.

Таким образом, результаты анализа многочисленных функциональных взаимосвязей генов, локализованных в регионе 2A 99.3 - 115.1 сМ, свидетельствуют о том, этот регион содержит генную сеть для транскрипционной перестройки метаболизма растений при адаптации к стрессу, в которую тесно вплетена генная сеть для регуляции оксипириновой сигнализации.

На рис. 56 представлена основанная на наших данных и литературных источниках гипотетическая схема, того, как внеклеточные стимулы, связанные с водным дефицитом, могут инициировать транскрипционное перепрограммирование, а также определены место и роль оксипиринового пути ЛОГ в этом процессе:

- Количество или отношение полифосфатов инозита изменяется в определенных физиологических условиях, и это изменение может использоваться клеткой в качестве решающих сигналов (Alcazar-Roman, Went, 2008).

- Ca^{2+} является ключевым игроком в растительных ответах на экологические стимулы, что приводит к контекстно-зависимым колебаниям Ca^{2+} «выше и ниже по течению» биосинтеза ЖАК, либо параллельного образованию ЖАК, и является частью регулирующей сети гормональных путей (Pauwels et al., 2009).

- Для адаптации своего ответа к типу испытываемого стресса и достижения баланса между ростом и защитой в динамических экологических условиях используется механизм «перекрестного разговора» гормонов ЖАК, АБК, ауксин, этилен, салициловая кислота и брассиностероид. (Verma et al., 2017). Конечной точкой взаимодействия нескольких

гормональных сигнальных путей на уровне транскрипции является многосубъединичный комплекс Медиатор, который изменяет архитектуру хроматина и связывает ТФ с РНК Pol II во время транскрипции, являясь важным регулятором экспрессии генов (Allen, Taatjes, 2015).

- Быстрая и тонкая перестройка метаболизма растений в условиях стресса происходит за счет посттрансляционных модификаций белков, в том числе гистонов, ТФ и других регуляторов транскрипции (Hashiguchi, Komatsu, 2016). Гены, связанные с биосинтезом и регуляцией активности ЛОГ, занимают ключевые места в генной сети гормональной регуляции адаптации пшеницы к засухе. Это свидетельствует о важной роли этого фермента, главным образом его жасмонатного и пероксигеназного метаболических путей, в адаптации *T. aestivum* L. к засухе и значительном влиянии на экспрессию отвечающих за устойчивость к засухе генов. Можно полагать, что активность ЛОГ, инициирующая сигнальные пути, связанные с липидным катаболизмом, является важнейшим фактором в функционировании механизма для перестройки метаболизма растений при адаптации к водному дефициту.

4.3. Влияние интрогрессии генов липоксигеназы диких злаков в геном *Triticum aestivum* L. на устойчивость пшеницы к вододефицитному стрессу

Генетическая вариация признаков, связанных с потенциалом урожайности, устойчивостью к биотическим и основным абиотическим стрессам, ограничена у *T. aestivum* L., поскольку два события полиплоидизации, одомашнивание и современная селекция, привели к потере потенциально полезных аллелей (Chen et al., 2012; Bonnin et al., 2014). Ожидается, что генетическое разнообразие обеспечит буфер против непредвиденных ограничений, таких как изменения климата и патогены, и расширение генетического разнообразия ключевых признаков обеспечит большую стабильность урожайности в производстве пшеницы (Hughes 2003). Дикие родственники генетически гораздо более разнообразны, чем культивируемые пшеницы, и представляют собой полезные генетические ресурсы для нового разнообразия признаков (Rauf et al., 2010).

Aegilops tauschii Coss. ($2n = 2x = 14$, DD) был успешно использован для усиления генетического разнообразия в хлебной пшенице (Mujeeb-Kazi, 2006). Высокий уровень устойчивости к мучнистой росе, *Blumeria graminis* (DC.) E.O. Speer f. sp. tritici (Bgt) (Schmolke et al., 2012) и листовой ржавчине (Vasu et al., 2001; Zaharieva and Monneveux 2014) были перенесены в хлебную пшеницу от *T. monococcum* subsp. *monococcum* (AA). Дикий эммер, *Triticum turgidum* L. subsp. *dicoccoides* (Korn. ex Asch. & Graebn.) Thell. ($2n = 4x = 28$, ВВАА), является ценным источником устойчивости к мучнистой росе, листовой и полосатой

ржавчине и толерантности к жаре и засухе (Nevo et al., 2002). Культивированный *emmer*, *T. turgidum* L. subsp. *dicoccum* (Schrank ex Schubl.) Thell. имеет самую низкую естественную восприимчивость к русской пшеничной тле (*Diuraphis noxia*) (Lage et al., 2004) и был идентифицирован как потенциальный источник устойчивости к мучнистой росе, листовой и стеблевой ржавчине (Zaharieva et al., 2010).

Дикие пшеницы также являются источниками для генов устойчивости к абиотическим стрессам. Некоторые из *Ae. tauschii*, *Ae. speltooides* и *Ae. geniculata* Roth продемонстрировали способность выдерживать засуху (Baalbaki et al., 2006; Zaharieva et al., 2010). Дикие пшеницы являются потенциальными донорами для улучшения устойчивости к высоким температурам (Pradhan et al., 2011) и засолению почвы (Colmer et al., 2006).

***Aegilops speltooides* Tausch.** Генетические ресурсы *Ae. speltooides* Tausch используются для улучшения хлебной пшеницы (Mujeeb-Kazi 2006). В наших исследованиях интрогрессия дикого злака *Ae. speltooides* в геноме гексаплоидной пшеницы вызывала изменение активности ЛОГ, что было показано при исследовании интрогрессивных линий Родина x *Ae. speltooides* (рис. 48). Уровни ферментативной активности находились в прямо пропорциональной зависимости от степени выраженности интрогрессии, найденной в тех же линиях молекулярными генетиками при помощи субтеломерного повтора Spelt 1 (Salina et al., 2001) (рис. 49). Все линии с высоким содержанием Spelt 1 несли замещение 7S/7D. Хромосома 7S эгилопса гомеологична хромосоме 7В гексаплоидной пшеницы. Именно на хромосоме 7В в сходной позиции по данным наших исследований в линиях ITMI был картирован ЛКП, ассоциированный с активностью ЛОГ. Вероятно, на хромосоме 7В находится ген для активности ЛОГ, который был привнесен *Ae. speltooides*.

***Triticum timopheevii*.** Тетраплоидный вид *T. timopheevii*, обладающий комплексной устойчивостью к болезням и вредителям (Жуковский, Мигушова, 1969), считается одним из перспективных источников генов иммунитета (Devi et al., 2019). В предыдущие годы в ИЦиГ СО РАН была создана коллекция линий с интрогрессиями от *T. timopheevii* в генетическую среду различных отечественных сортов пшеницы (Budashkina, 1988). Эти линии были вовлечены в многочисленные молекулярные и иммунологические исследования с целью выявления участков интрогрессии, изучения содержащихся в них генов устойчивости к грибным заболеваниям (Тимонова и др., 2012; Леонова и др., 2014), а также состава запасных белков зерновки и хлебопекарных свойств (Обухова и др., 2008).

Линия 821 из этой коллекции, созданная на генетическом фоне сорта Саратовская 29, обладает устойчивостью к листовой ржавчине (Леонова и др., 2008) и несет интрогрессии в хромосомы 2А, 2В и 5А, (Leonova et al., 2001). Также показано, что эта линия имеет высокое

содержание клейковины в зерне и отличные хлебопекарные качества (Обухова и др., 2008). Как показали наши исследования, интрогрессии в хромосомы 2А, 2В и 5А оказали влияние на активность ЛОГ и физиологические параметры флагового листа у линии 821 и на ее устойчивость к водному дефициту. Интрогрессии привели к существенному увеличению транспирации и устьичной проводимости линии 821, вследствие чего эффективность использования воды была существенно снижена по сравнению с исходным сортом. По имеющимся данным (Osipova et al. 2015) ЛКП, ответственные за устьичный контроль фотосинтеза, локализованы на хромосомах пшеницы второй гомеологической группы, и, вероятно, интрогрессии в хромосомы 2А и 2В повлекли за собой этот эффект. У С29 в условиях водного дефицита почти пропорционально (в 1,6 – 1,7 раз) повышались все показатели газообмена, в отличие от линии 821 и, как следствие, ЭИВ в условиях стресса поддерживалась на высоком уровне. Наши результаты согласуются с данными ранее проведенного эксперимента, в котором С29 выращивалась в условиях острой засухи, при 10% влажности почвы от нормы. Было обнаружено, что в этих условиях не происходит значительного снижения ассимиляции CO_2 (Давыдов, 2007). Это объяснялось за счет 1,5-3,0-кратного увеличения числа устьиц на обеих сторонах листа во время засухи, что способствует поддержанию уровня ассимиляции CO_2 в условиях снижения размеров и биомассы листа.

Линия 821 уступала исходному сорту С29 по ключевым параметрам фотосинтетического аппарата - скорости транспорта электронов в фотосистеме II, реальной эффективности фотосинтеза, содержанию хлорофиллов А и В, содержанию каротиноидов, которые участвуют в рассеивании излишней световой энергии и защищают фотосинтетический аппарат от фотоокисления. Возможно по этой причине, в отличие от С29 у линии 821 в условиях засухи нефотохимическое тушение снижалось. Интрогрессированная линия существенно отличалась от исходного сорта по активности ЛОГ. В условиях стресса активность ЛОГ была в 2 раза выше (табл. 33). Резкое повышение активности ЛОГ у линии 821, вероятно, может объясняться необходимостью активизации защитных сигнальных путей, связанных с липидным катаболизмом.

Существенные различия в уровне активности ЛОГ у изученных генотипов и его изменение в условиях стресса у интрогрессированной линии свидетельствуют о том, что участки интрогрессии несут существенные генетические факторы, определяющие активность этого фермента. Вероятно, такой фактор находится на рекомбинантном участке хромосомы 5AL, так как в этой области ранее были картированы гены гомеоаллельной серии *Lpx-2*, кодирующие одну из изоформ этого фермента (McIntosh et al. 2013). Генетическими

факторами, определяющими активность ЛОГ в линии 821, могут быть регуляторные гены на участках интрогрессии на хромосомах 2 гомеологической группы. С использованием другой пшеничной популяции ИРЛ ЧС/Синбх на хромосоме 2D нами были идентифицированы четыре ЛКП ответственные за активность этого фермента (рис. 54).

Тенденции изменений по нескольким параметрам в реакции на воддефицитный стресс и их различия у исследуемых генотипов могут свидетельствовать об истинной устойчивости к засухе, когда растения не страдают от недостатка влаги, у сорта С29 и активации механизма адаптации к засухе у линии с интрогрессиями от *T. timopheevii*. Вероятно, адаптация к засухе у *T. timopheevii* включает липидную мобилизацию и сигнализацию, инициируемую растворимой ЛОГ. Генетическая регуляция этого процесса связана с хромосомами 2 и 5 гомеологических групп.

Aegilops tauschii. Около 8000 лет назад спонтанная гибридизация дикой диплоидной травы *Ae. tauschii* ($2n=14$; DD) с культивированной тетраплоидной пшеницей *T. turgidum* ($2n=5+4x=28$; AABB) привела к получению гексаплоидной пшеницы (*T. aestivum*; $2n=6x=42$; AABBDD). Пшеница с тех пор стала основным продуктом питания во всем мире в результате ее повышенной адаптируемости к широкому спектру климата и улучшению качества зерна для производства хлебопекарной муки (Feldman et al., 2012).

Секвенирование генома *Ae. tauschii* показало расширение агрономически подходящих семейств генов, которые были связаны с устойчивостью к болезням, толерантностью к абиотическому стрессу и качеством зерна. В *Ae. tauschii* по сравнению с сорго, рисом, *Brachypodium* и кукурузой были чрезмерно представлены гены, кодирующие NBS-LRR (белки, содержащие нуклеотид-связывающий сайт и обогащенные лейциновыми повторами), которые выполняют функцию рецепторов для экзометаболитов патогенов; гены для семейства цитохромов P450; гены, кодирующие предшественник белка-ингибитора перекристаллизации льда, ТФ DREB2 и другие. Анализ экспрессии генов по данным РНК-Seq показал что большинство из них были конститутивно выражены в *Ae. tauschii* (Jia et al., 2013).

Ae. tauschii имел избыток генов ТФ MYB, 13 ТФ были связаны с экспрессией генов устойчивости к засухе. У *Ae. tauschii* было выявлено расширение двух семейств микроРНК miR2118 и miR2275. Геном *Ae. tauschii* служил источником для многих генов качества зерна в гексаплоидной пшенице высоко- и низкомолекулярные молекулярные субъединицы глютеина, (HMW-GS и LMW-GS), текстуры зерна (белки GSP, пуринодолины) и активатора запасного белка (SPA) (Jia et al., 2013).

Секвенирование генома *Ae. tauschii* показало усиленный набор генов для адаптации пшеницы, включая гены белков, которые могут быть связаны с липидным метаболизмом, инициированным ЛОГ (белки, обогащенные лейциновыми повторами, цитохромы P450, TF DREB2 и MYB). Результаты наших исследований активности растворимой, мембранной и двух хлоропластных форм ЛОГ в ИРЛ ЧС/Синбх показали, что интрогрессия дикого злака увеличивала активность всех изученных форм фермента, как при оптимальном, так и при недостаточном водообеспечении, за исключением активности ХлРЛОГ в условиях водного дефицита. Интрогрессия *Ae. tauschii* также влияла на характер изменения уровня активности фермента под влиянием засухи.

В наших исследованиях в условиях засухи Синтетик бх, несущий интрогрессии *Ae. taushii*, в сравнении с ЧС имел две дополнительные молекулярные формы растворимой ЛОГ и одну мембранной ЛОГ (рис. 40, 42). Вероятно, эти изоформы привнесены от дикого злака и участвуют в его адаптации к абиотическому стрессу. Однако у синтетической пшеницы отсутствовали три хлоропластные молекулярные формы фермента: одна растворимая и две мембранные, выявляемые у ЧС (рис. 43, 44).

Наблюдаемые в эксперименте с ИРЛ ЧС/Синбх различия между родителями по изоферментному составу и уровню активности отдельных форм фермента, содержанию фотосинтетических пигментов, параметрам газообмена и зерновой продуктивности при нормальном и (или) недостаточном водообеспечении, могут свидетельствовать о применении ими разных адаптивных стратегий, что находило отражение в различии их ИУ% по параметрам Эффективность использования воды и Масса зерна в колосе. Под воздействием засухи ЧС увеличивал активность хлоропластных форм ЛОГ, в то время как Синбх - растворимых и мембранных форм фермента.

Наследование активности всех изученных форм ЛОГ по типу Синбх, несущего интрогрессии *Ae. taushii*, приводило к более низкой устьичной проводимости и транспирации в условиях водного дефицита (табл. 34). Вероятно, адаптация к засухе у дикого злака связана с увеличением активности растворимой и мембранной форм ЛОГ листьев, которые участвуют в механизме регуляции устьичных эффектов в условиях засухи.

4.4. Физиологическая роль разных форм липоксигеназы пшеницы

4.4.1. Растворимые липоксигеназы зрелых семян пшеницы

ЛОГ зрелых семян широко изучается в связи с ее негативным влиянием на макаронные свойства тетраплоидной пшеницы (Fu et al., 2013). Представляет научный интерес и роль ЛОГ в проявлении хлебопекарных свойств гексаплоидной пшеницы (Bahal et al., 2013). Наши

исследования были сосредоточены на изучении генетической регуляции активности семенной ЛОГ в связи с ее влиянием на формирование клейковины, определяющее ее хлебопекарное качество пшеницы. Изучение семян замещенных линий пшеницы С29/JP по разным гомеологическим группам хромосом и ЗЛ Дм 2/Н67 по хромосомам 1 и 6 гомеологических групп выявило участие многих хромосом в регуляции активности ЛОГ, а также ее сопряженность с признаками зерновой продуктивности и хлебопекарными параметрами пшеницы (рис. 23 - 26). Взаимосвязь активности семенной ЛОГ с параметрами качества клейковины и смесительными свойствами теста была выявлена и в пшеничной популяции РИЛ ITMI (табл. 4).

Влияние экзогенной ЛОГ на хлебопекарные свойства пшеницы. Для выявления действия ЛОГ на хлебопекарные свойства пшеницы был проведен эксперимент с экзогенным внесением фермента в процессе приготовления хлеба. В литературе имеются сведения о применении различных окислительных ферментов, в том числе и ЛОГ, в качестве улучшителей хлебных изделий (Dunnewind et al., 2002). По сравнению с другими растениями, семена сои имеют очень высокое содержание ЛОГ и используются в коммерческих препаратах – улучшителях теста. В нашем исследовании внесение в пшеничное тесто 2% соевой муки или растительного масла как источника субстрата ЛОГ - ПНЖК, не улучшало хлебопекарных свойств муки. Дополнительное кратковременное интенсивное насыщение теста кислородом во время замеса теста, приводило к увеличению всех параметров и общей хлебопекарной оценки. Это связано с тем фактом, что насыщение теста кислородом усиливает активацию не только экзогенного фермента, но и также и эндогенных ЛОГ пшеницы и других оксидоредуктаз, содержащихся в пшеничной муке.

В результате наших опытов (табл. 2, 3) были найдены наиболее оптимальные условия для действия экзогенного фермента – дополнительная ферментация путем гомогенизации в воде соевой муки и части необходимой для замеса теста пшеничной муки. Объем хлеба в нашем исследовании увеличивался только при добавлении соево-дрожжевого гомогената. Вероятно, это связано с тем, что в этом случае продлевается время ферментации теста, создавая более благоприятные условия для активности экзогенной ЛОГ.

Каждый из факторов, и гомогенизация части пшеничной муки с соевой мукой и водой, и интенсивное насыщение кислородом теста без предварительной гомогенизации, в отдельности, независимо друг от друга, улучшали параметры хлеба, но только сочетание этих двух факторов приводило к увеличению всех параметров и общей хлебопекарной оценки.

Вероятно, добавление ЛОГ соевой муки в пшеничную муку действует аналогично добавлению химических окислителей, но действует более мягко. Предположительно, связывание продуктов окисления ЛОГ приводит к уменьшению поверхностной гидрофобности растворимых глютеинов, структурным изменениям в белках теста и усилению клейковины и теста (Shiiba et al., 1991). Ферментативно-активная соевая мука наиболее подходит для улучшения муки низкого качества с высокой растяжимостью теста и может успешно заменить сильные окислительные усилители теста и препараты сухой клейковины известных производителей. Более того, это может быть более эффективным, чем препараты сухой клейковины, для муки, содержащей примесь зерна, поврежденного пшеничными клопом-черепашкой, когда эффект клейковины будет снижен, поскольку протеолитические ферменты вредителя дезагрегируют белки как муки, так и добавленной клейковины.

Статистически значимое повышение параметров в стадии ферментации и расстойки теста, готовых хлебцев, объема хлебцев и органолептических характеристик, вызванных добавлением 2% соевой муки и подсолнечного масла в соево-дрожжевом гомогенате в тесто из пшеничной муки с дополнительной активацией кислородом предполагает, что этот экономичный метод улучшения пшеничного теста может быть применим в коммерческом хлебопечении.

Влияние эндогенной ЛОГ на качество зерна, муки и теста пшеницы. Формирование технологических свойств зерна и муки определяется большим количеством генетических факторов, а их фенотипическое проявление модифицируется условиями среды в процессе созревания зерновки. С развитием науки о зерне возрастает количество признаков, характеризующих технологические свойства пшеницы, следовательно, и методов их определения. В настоящее время разработано около трех десятков методов, которые не заменяют, а дополняют друг друга. Нами было изучено 17 параметров качества у пшеницы РИЛ ИТМІ. На основании парного корреляционного анализа параметров (табл. 4) можно сделать следующие выводы об их взаимосвязи: Мукомольные параметры Стекловидность зерна и два параметра, определяющие твердость зерна, тесно связаны между собой. Показатели альвеографа, определяющие физические свойства теста, Сила муки и Упругость теста, тесно связаны и обнаруживают одинаковые типы корреляции с несколькими параметрами фаринографа, определяющими смесительные свойства теста, а также отсутствие корреляции с другими показателями. Параметры Сила муки и Упругость теста не связаны с другим параметром альвеографа Растяжимостью теста. Растяжимость теста обнаруживает отличные от других показателей альвеографа типы корреляций. Между показателями

альвеографа и фаринографа обнаружена тесная корреляционная зависимость. Все показатели фаринографа, кроме Водопоглотительной способности муки (ВПС) тесно связаны между собой. Параметры фаринографа, исключая ВПС, мало связаны с мукомольными признаками. ВПС связана со всеми показателями хлебопекарного качества пшеницы, кроме Массы 1000 зерен и Растяжимости теста.

В нашем исследовании, корреляционные связи активности ЛОГ с отдельными технологическими параметрами (Масса 1000 зерен, Сила муки) проявлялись у разных популяций пшеницы в различных условиях выращивания, что свидетельствует о влиянии фермента на качество муки и теста. Однако характер этого влияния неоднозначен и зависит не только от вклада её отдельных изоферментов (Shiiba et al., 1991), но, как показано нами, и от уровня ферментативной активности (табл. 6, 8). Наши результаты показали, что высокий уровень активности ЛОГ определял отрицательный, а низкий - положительный характер ее корреляционной связи с основными хлебопекарными параметрами. В то же время многие технологические параметры обнаружили положительную связь с активностью ЛОГ только при высоком уровне их значений (табл. 7), что может подтверждать необходимость участия фермента в формировании высокого качества клейковины и теста.

Положительную корреляцию активности ЛОГ с таким важным агрономическим показателем, как Масса 1000 зерен, которая независимо от уровня ферментативной активности отмечалась в разных популяциях при различных условиях выращивания, необходимо отметить особо. Возможно, это связано со способностью отдельных изоформ фермента функционировать как запасной белок, участвуя во временном запасании азота (Tranbarger et al., 1991).

В нашей работе продемонстрировано, что активность эндогенной ЛОГ в зерне пшеницы связана с параметрами Сила муки, Упругость и Растяжимость теста и смесительными характеристиками теста, определяемыми на фаринографе. Отрицательная корреляционная взаимосвязь активности ЛОГ и Растяжимости теста независимо от уровня их значений может свидетельствовать о том, что фермент действует на клейковину, уменьшая параметр Растяжимость теста. Отрицательная связь Растяжимости теста с активностью ЛОГ объясняет ее противоречивую роль в определении качества клейковины и теста. Растяжимость теста – неоднозначный показатель, мало связанный с параметрами Сила муки и Упругость теста, и как нами было показано, определяемый иными генетическими факторами (Пшеничникова и др., 2008). Растяжимость теста имела отрицательные корреляционные связи с мукомольными параметрами и ВПС, а со смесительными свойствами теста – положительные.

Известно, что Растяжимость теста, а также эластичность теста, как сочетание растяжимости с упругостью, определяющие хлебопекарные свойства мягкой пшеницы, привносятся геномом D. Клейковина тетраплоидной пшеницы, у которой отсутствует геном D - прочная, малорастяжимая, коротко рвущаяся, и поэтому высокая активность ЛОГ, связанная с уменьшением растяжимости, для твердой пшеницы нежелательна. Для хорошего качества муки и теста хлебопекарной пшеницы, вероятно, нужен оптимальный для каждого отдельного генотипа уровень ЛОГ, определяющий оптимальные значения параметра Растяжимость теста и, соответственно, соотношение параметров Упругость и Растяжимость теста (P/L), как показано нами для РИЛ ITMI (табл. 9).

Влияние эндогенной ЛОГ на текстуру эндосперма пшеницы. Текстура эндосперма, его твердость или мягкость, является важной технологической характеристикой гексаплоидной пшеницы и определяет ее мукомольные характеристики и конечное использование. Твердозерные сорта применяются для хлебопечения, так как твердость зерна положительно связана с основными параметрами качества клейковины (табл. 4). Мягкозерные сорта используют для производства кондитерских изделий.

Как уже было сказано выше, главная роль в формировании текстуры эндосперма принадлежит ПИН, специфическим белкам *T. aestivum*, расположенным на поверхности крахмальных гранул эндосперма. Экспрессия генов ПИН дикого типа приводит к образованию мягкого зерна, а твердая текстура формируется, когда один из генов ПИН несет нуль-аллель или имеет мутации (Bhave, Morris, 2008). В связи с сильными липид-связывающими свойствами этих белков, предполагают, что их присутствие на поверхности крахмальных зерен опосредовано липидами. Эти липиды происходят, главным образом, из остатков мембран амилопласта, деградировавших в процессе высыхания семени (Pauly et al., 2013). Адсорбция пуриноидинов в водно-липидной среде может активировать липид-деградирующие ферменты, в том числе ЛОГ (Marion et al., 2003). Однако до сих пор активность ЛОГ не рассматривали в связи с текстурой эндосперма. Вместе с тем, было показано, что одной из основных жирнокислотных составляющих фосфо- и галактолипидов на поверхности крахмальных гранул является ЛК (Finnie et al., 2010). Можно предположить участие ЛОГ в формировании текстуры эндосперма пшеничного зерна посредством утилизации поверхностно-крахмальных липидов.

С помощью корреляционного анализа нами была установлена взаимосвязь уровней значений твердозерности и активности ЛОГ среди нескольких сортов гексаплоидной пшеницы (табл. 11), в двух наборах ЗЛ и популяции РИЛ ITMI (табл. 12), а также установлена взаимозависимость их изменения в неблагоприятной среде у ЗЛ ДМ2/Нов67

(табл. 13). Все полученные результаты говорят об антагонизме высокой активности ЛОГ и твердозерности, косвенно свидетельствуя о возможности участия фермента в механизме формирования текстуры эндосперма. Твердозерность не всегда прямо связана со стекловидностью, как в некоторых наших результатах (табл.12, 13), так как в основе этих признаков лежат различные биохимические процессы. В нашей работе были идентифицированы как общие, так отдельные ЛКП для этих параметров. (Пшеничникова и др., 2008). Стекловидность, в отличие от твердозерности, сильнее зависима от условий окружающей среды в процессе роста (Turnbull, Rahman, 2002).

Корреляционные тенденции ферментативной активности с параметрами текстуры эндосперма показывают, что ЛОГ может вносить свой вклад в мягкость эндосперма. Не исключено, что ЛОГ вовлечена в формирование текстуры эндосперма, действуя синергически с ПИН. Известные данные о действии ПИН (Dubreil et al., 1998) и ЛОГ (Shiiba et al., 1991) на пенообразование в тесте и хлебопекарное качество, показывают их сходство. Как уже было сказано выше, вероятно, это связано с общей биологической функцией мобилизации липидов эндосперма при биотическом и абиотическом стрессах, а также при прорастании семян.

Образование пшеничного теста в определённой степени имитирует процесс прорастания, когда вода проникает в эндосперм. В пшеничном тесте наблюдаются капли масла, которые могут соответствовать липидным телам алейронового слоя и зародыша (Marion et al., 2003). В пшеничном тесте возможно взаимодействие между ПИН и ЛОГ, так как ЛОГ из зародыша и семенных оболочек присутствует в муке.

Принято считать, что пероксиды ЖК, образованные действием ЛОГ, окисляют SH-группы запасных белков, способствуя образованию дисульфидных связей, укреплению клейковины и улучшению хлебопекарного качества (Shiiba et al., 1991). Однако было показано, что значительное ингибирование образования пероксидов, лишь незначительно ухудшало реологический эффект (Faubion, Hoseneu, 1981). В настоящее время существует мнение, что радикальный интермедиант, образующийся в процессе ЛОГ-катализируемой липидной оксигенации, ответственен за окисление -SH групп при формировании клейковиной матрицы, а также в тесте во время замеса (Hayward et al., 2017).

В дополнение к образованию дисульфидных связей, окисленные тиоловые фрагменты могут также образовывать сшивки с водорастворимыми пентозанами, с помощью феруловой кислоты, этерифицированной с арабиноксиланами, чтобы сформировать вязкие гели в процессе, известном как окислительное гелеобразование (Izydorczyk, Biliaderis, 2006). Сшивки происходят только в присутствии окислителей, способных производить свободные

радикалы, а не в присутствии общих оксидантов, таких как йодат калия, бромат калия или аскорбиновая кислота. Поэтому окислительное гелеобразование является альтернативным механизмом, посредством которого ЛОГ улучшает реологические свойства теста, основанные на формировании реакционноспособных промежуточных продуктов при оксигенации ЛК (Izydorczyk, Biliaderis, 2006; Ren et al., 2015).

По нашим данным высокая активность ЛОГ была отрицательно связана с основными параметрами, отражающими крепость клейковины - Сила муки и Упругость теста, а также с твердозерностью, которые между собой взаимосвязаны положительно (табл. 4). Это находится в противоречии с мнением об укрепляющем клейковину действии ЛОГ, согласно вышеописанным механизмам (Shiiba et al., 1991).

По нашему мнению, существует еще один механизм влияния ЛОГ на клейковину. Возможно, основной вклад ЛОГ в хлебопекарное качество обусловлен утилизацией поверхностно-крахмальных липидов. Как известно, при образовании клейковины эти липиды внедряются в ее белковый матрикс, связываясь с глиадином и глютелином (McCann et al., 2009), что придает клейковине пластичность, увеличивая ее растяжимость (Конарев, 1980). ЛОГ, конкурируя с клейковинными белками за связывание липидов, тем самым способствует снижению растяжимости клейковины и ее укреплению. Этот биохимический процесс может быть не связанным с укреплением клейковины, выражающимся увеличением параметров Сила муки, Упругость теста и твердозерности, и оба механизма с участием ЛОГ действуют в клейковине одновременно и независимо.

Формированием хлебопекарного качества связано с фолдингом и полимеризацией проламинов в эндосперме семян пшеницы (Shewry et al., 2009). Дисульфидные связи рассматриваются в качестве основных сил, связывающих запасные белки пшеницы, включенные в интегрированную сеть клейковины. Высокая вариабельность качества клейковины в различных условиях окружающей среды обусловлена взаимодействием лабильных ферментных систем с запасными белками в развивающемся зерне пшеницы, которые регулируют фолдинг полипептидов, окислительно-восстановительный и SS/SH баланс полимерных белков, а также крахмал-липид и липид-белковые взаимодействия (Osipova et al., 2012).

В наших исследованиях активность семенной ЛОГ в стадии молочной спелости была значительно выше, чем в спелом зерне (рис. 27). Это может быть связано с тем, что максимальная экспрессия трех генов семенных ЛОГ наблюдается в период 30 дней после цветения (De Simona, 2010). Именно в этот период происходит образование клейковины (Abonyi et al., 2010). Вероятно, среди других оксидоредуктаз семенные ЛОГ вовлечены в

фолдинг запасных белков, следовательно, могут влиять на развитие эндосперма пшеницы и образование белковой матрицы клейковины. Вероятно, эндогенная ЛОГ не является основополагающим фактором, а лишь одним из многих факторов, вносящих вклад в конечное качество клейковины отдельных генотипов. По нашему мнению положительный или отрицательный характер влияния ЛОГ на хлебное качество, зависит от состава изоферментов ЛОГ, утилизирующих различные типы липидов и определяется уровнем ферментативной активности.

Впервые выявленный нами факт, что действие ЛОГ на укрепление белкового комплекса клейковины, связано с уменьшением параметра Растяжимость теста, может быть полезным для целенаправленного применения фермента в технологии хлебопечения: для укрепления теста с высокой растяжимостью, вызванной сортовыми особенностями или поражением зерна клопом - черепашкой; для снижения отрицательного действия восстановленного глутатиона, содержащегося в зародыше пшеничного зерна и дрожжах и являющегося причиной релаксации клейковины в процессе приготовления теста; для поддержания необходимого баланса параметров Упругость и Растяжимость в тесте из муки с низкой упругостью. Это можно использовать для нормализации пшеничной муки при приготовлении смесей, добавляя муку сортов с высокой активностью ЛОГ, дающую малорастяжимую клейковину к муке сортов с высокими показателями растяжимости клейковины и теста. Оптимальный диапазон уровня активности ЛОГ в зерне мягкой пшеницы может быть дополнительным критерием при выборе исходного материала для селекции на качество. Генетические манипуляции уровнями активности изоферментов ЛОГ позволят целенаправленно изменять соотношение упругости и растяжимости клейковины, что может явиться одним из средств регуляции твердозерности и улучшения хлебного качества.

Влияние водного дефицита на активность липоксигеназы семян пшеницы. Как для родительских форм пшеницы, так и для 45 РИЛ ITMI, изученных в течение двух сезонов, было характерно повышение активности ЛОГ в 1.4 – 1.8 раз в засушливых условиях 2003 года в сравнении с благоприятными условиями 2000 года (табл. 14). В условиях благоприятного года активность ЛОГ была положительно связана с несколькими технологическими параметрами и отрицательно с параметром Устойчивость теста к замесу (табл. 4), однако статистически значимых корреляций в условиях засушливого года обнаружено не было.

Влияние водного дефицита на активность ЛОГ семян и другие признаки мы изучали также в двух наборах линий пшеницы с одними и теми же родителями Чайниз Спринг (ЧС) и

Синтетик 6х (Син6х) – в замещенных линиях (табл. 15) и рекомбинантных интрогрессированных линиях (ИРЛ) (табл. 16). В обоих наборах линий активность ЛОГ различалась у родителей. В эксперименте с ЗЛ она значительно возрастала у ЧС в условиях засухи, а у Син6х, напротив – снижалась. Такая же тенденция наблюдалась и по скорости агрегации клейковинных белков. По ИУ% большинства признаков Син6х и ЧС статистически значимых различий не проявили. Такие признаки, как Активность ЛОГ, Масса флагового листа и Скорость агрегации белков под действием засухи лучше сохранялись у ЧС, а Масса побега в стадии цветения – у Син6х.

В эксперименте с ИРЛ под воздействием засухи уровень активности ЛОГ увеличивался у обоих родителей, но ИУ% активности ЛОГ был значительно выше у ЧС. Ферментативная активность у ЧС под воздействием засухи увеличилась в 2,4 раза, а у Син6х увеличилась только на 23.5%. ИУ% параметров зерновой продуктивности Количество зерен в колосе, Масса зерна в колосе, Крупность зерна оказались выше у Син6х, т.е. Син6х, имеющий более низкую активность ЛОГ и незначительно, в сравнении с сортом ЧС, увеличивающий ее под влиянием засухи, лучше сохранял зерновую продуктивность.

На примере ЗЛ ЧС/Син6х было показано, что уровень активности растворимой ЛОГ семян и эффект замещения по этому признаку у отдельных генотипов отличался в зависимости от водного режима. При оптимальных условиях он проявился у одной линии - с замещением хромосомы 4D, а в условиях засухи у шести ЗЛ - 1D, 2В, 3А, 3В, 4В и 4D (рис. 30). Эти данные свидетельствуют о том, что многие хромосомы участвуют в генетическом контроле активности ЛОГ, и о том, что контроль ферментативной активности при водном дефиците более сложный.

Наши результаты изучения активности растворимой ЛОГ семян показывают ее связь с продуктивностью зерна и качеством клейковины пшеницы. Полиморфизм по активности растворимой ЛОГ семян оказался связанным не только с хромосомами, несущими структурные гены этого фермента, но и с другими хромосомами, что указывает на существование и экспрессию регуляторных генов, модулирующих функциональную активность ЛОГ семян в разных условиях среды.

У ЗЛ ЧС/Син6х была выявлена корреляционная связь между ферментативной активностью и агрегирующей способностью белков (табл. 17). Этот факт подтверждает вовлечение растворимой семенной формы фермента в процесс агрегации запасных белков при образовании клейковины, усиливающегося в условиях засухи у сорта ЧС, и снижающегося у синтетической пшеницы.

ЛОГ находится в большом количестве в зрелых семенах и других запасующих органах растений. В литературе было постулировано, что в запасующих органах, ЛОГ и ее продукты окисления ПНЖК, играют роль в прорастании, раннем развитии стеблей (Hildebrand, Nymowitz, 1981) и защите от патогенов (Bugow et al., 2000). Однако в экспериментах с линией сои, испытывающей недостаток трех семенных изоферментов ЛОГ, никаких неблагоприятных эффектов на развитие и урожай не было обнаружено (Narvel et al., 1998). Эти данные подтверждают идею, что семенные ЛОГ могут функционировать как запасной белок (Siedow, 1991), подобно вегетативному запасному белку VSP94/ЛОГ (Tranbarger et al., 1991).

В запасующих тканях липиды могут быть тесно связаны с крахмальными зернами. Эти липиды, называемые «внутренними крахмальными» липидами в основном состоят из моноацилированных фосфолипидов, особенно лизофосфатидилхолина и свободных жирных кислот в качестве основных компонентов и определяют физико-химические свойства крахмала (González-Thuillier et al., 2015). Метаболизм захваченной крахмалом ЖК липоксигеназой должен включать предварительный этап освобождения ее либо путем изменения конформации амилозы или путем разрушения амилозы гидролизом или диссоциации. В модельной системе с циклодекстринами (ЦД) было показано, что ЦД конкурируют с ЛОГ за связывание с ЛК. ЛК в комплексе с ЦД не является подходящим субстратом, поэтому ЦД ведет себя как конкурентный ингибитор (López-Nicolas et al., 1997). Тогда, когда амилоза гидролизуется или разрушается ее спиральная структура, возможно массовое выделение ЖК, окисляемых избытком ЛОГ. Этот факт объясняет кажущийся парадокс сосуществования ЛОГ и свободных ПНЖК в семенах и клубнях без окисления.

Состояние покоя семян является адаптивной чертой, которая блокирует прорастание жизнеспособных семян. Состояние «покой – прорастание» контролируется взаимодействием сигналинга АБК, гиббереллина, жасмоната и индолилуксусной кислоты. АБК ингибирует прорастание семян пшеницы путем подавления транскрипции генов, связанных со сборкой хроматина и модификацией клеточной стенки, а также с активизацией катаболических генов ГК (Skubacz et al., 2017).

Оксипиноновый и транскриптомный анализы показали, что во время позднего созревания семени происходит накопление оксипинонов 12-ОФДК, ЖАК и ЖАК-Иле. Был показан антагонистический эффект жасмоната на АБК–опосредованное ингибирование прорастания (Liu et al., 2014). Однако, 12-ОФДК, посредством синергического взаимодействия с АБК, блокировала прорастание семян, и даже более высокие уровни эндогенного гиббереллина в сухих и набухших семенах были недостаточны для облегчения

этого блока. Эндосперм играл важную роль в блокировании прорастания семян ОФДК (Dave et al., 2011). Продукты пути семенных ЛОГ выступали в качестве сигнальных молекул, по-разному влияя на процессы развития семян, в том числе при покое и прорастании.

Таким образом, активность ЛОГ семян пшеницы может быть связана с регулированием уровней оксипиринов в ответ на абиотические и биотические сигналы, играть важную роль при определении состояния «покой-прорастание» зрелых семян и влиять на формирование клейковины, определяющее хлебопекарное качество пшеницы.

4.4.2. Растворимые и мембраносвязанные липоксигеназы проростков пшеницы

Процесс прорастания семян масличных культур растений характеризуются мобилизацией запасных липидов, которые служат основным источником углерода для проростков. Оригинальные ТАГ, присутствующие в зародыше катаболизируются очень быстро, в то время как в растущих тканях синтезируются новые триглицериды с различным паттерном ЖК (Olmego, Glass, 1969).

Мобилизацию липидов в различных тканях прорастающих зерен овса анализировали с использованием тонкослойной и газовой хроматографии (Leonova et al., 2010). Полученные данные указывают на то, что ТАГ эндосперма были поглощены щитком, либо как СЖК, высвобождаемых из ТАГ, или как неповрежденные ТАГ, немедленно деградирующими до СЖК. При прорастании зерна липиды, хранящиеся в эндосперме, разлагаются под действием ферментов, которые синтезируются и секретируются из тканей алейрона и щитка. В результате чего транспортабельные молекулы липидов передаются через абсорбцию щитка для питания растущего эмбриона (Leonova et al., 2010).

Большое количество этерифицированной (13S) -гидрокси-(9Z, 11E) -октадекадиеновой кислоты, образованной действием одной из форм ЛОГ, было обнаружено в липидных телах, тогда как другие окисленные изомеры ЖК были найдены только как следы. Продукты ЛОГ были обнаружены в запасных ТАГ и, в большей степени, в фосфолипидах, окружающих липидные тела как монослой. Степень насыщения кислородом запасных липидов резко возрастала в течение прорастания. Насыщенные кислородом ЖК отщеплялись от липидных тел и впоследствии высвобождались в цитоплазму (Feussner et al., 1995; Rudolph et al., 2011).

Известно, что жасмонаты, наряду с ГК, АБК ЭТ, контролируют прорастание семян растений и их защиту от патогенов посредством гормонального сигналинга, сконцентрированного в алейроновом слое (Wang, Irving, 2011). Прорастающие семена арабидопсиса содержали повышенные уровни ОФДК, ЖАК и ЖАК-Иле. Однако ОФДК, а не

ЖАК или ЖАК-Иле, вносила вклад в блокирование прорастания семян и этот эффект был синергичным с действием АБК (Dave et al., 2011).

Вероятно, обе обнаруженные нами формы ЛОГ проростков связаны с мобилизацией липидов при прорастании семян пшеницы. На основании анализа литературных и наших данных мы предполагаем, что в катаболизме запасных липидов в процессе прорастания семян вместе с ЛОГ участвуют липид-переносящие белки, синергичное взаимодействие которых с ЛОГ может быть связано с гормональной сигнализацией при прорастании и влиять на формирование текстуры эндосперма.

Ко-локализация генов ПИН и полярных липидов, текстуры эндосперма и качества клейковины в локусе твердозерность *Ha* на хромосоме 5D (Turnbull, Rahman, 2002) и выявленного нами ЛКП для активности прМЛОГ свидетельствует о причастности этой формы фермента к определению текстуры эндосперма. Наше предположение основано также на высокой вероятности физиологической взаимосвязи между липид-деградирующим ферментом ЛОГ, липидными переносчиками пуриноидными и поверхностно-крахмальными полярными липидами, жирнокислотный состав которых (Finnie et al., 2010) позволяет им быть предпочтительным субстратом для ЛОГ.

Возможно, растворимые формы фермента тоже влияют на формирование текстуры эндосперма. Это подтверждается отрицательной корреляционной взаимосвязью активности растворимой ЛОГ семян с твердозерностью и стекловидностью среди сортов гексаплоидной пшеницы (табл. 11) и в нескольких популяциях пшеницы (табл. 12, 13), а также ко-локализацией активности листРЛОГ с ЛКП для мукомольного выхода муки и вариантных форм ПИН В на хромосоме 7D (Parker et al., 1999; Chen et al., 2011).

Хотя поверхностно-крахмальные белки ПИН интенсивно изучаются в связи с тем, что они составляют биохимическую основу пшеничной твердозерности (Pauly et al., 2013), кажется логичным, что причина их присутствия в зерне пшеницы не связана с их воздействием на текстуру зерна. По нашему мнению, возможность взаимосвязи между ЛОГ и ПИН следует рассматривать в свете биологических функций этих белков. Были показаны противогрибковые (Dubreil et al., 1998) и антибактериальные (Carrarelli et al., 2006) свойства ПИН, однако их биологическая функция остается в значительной степени неизвестной.

Jerković с соавторами (2010) идентифицировали ЛОГ среди белков, связанных с окислительным стрессом и защитой, в наружных слоях отрубей, а также 12-ОФДК редуктазу в алейроне. Последняя является частью октадеканойдного пути, инициированного ЛОГ, который преобразует ЛК в ЖАК. Было показано, что поверхностно-крахмальные белки ПИН

вместе с ns-LTP могут быть локализованы в небольших тельцах среди алейроновых зерен и деградируют в процессе прорастания семян (Dubreil et al., 1998)

Поскольку эндосперм зерна однодольных злаков - умирающая ткань в зрелом зерне, он утерял полноценные пероксисомы и, следовательно, не может служить в качестве места для катаболизма липидов через пероксисомальное β -окисление и глиоксилатный цикл. По этой причине существует транспортировка липидов эндосперма в другие части зерна, включая алейрон, щиток и зародыш, где имеются пероксисомы и ферменты, разрушающие липиды (Leonova, 2010).

Вышеизложенное наводит на мысль, что ПИН, сформированные в эндосперме в процессе развития и созревания семян, затем способны мигрировать в алейрон для деградации в процессе прорастания семян. Возможно в алейроновом слое, обогащенном как липазами, так и ЛОГ, происходит катаболизм полярных липидов, транспортированных ЛОГ, и диалог между ПИН и ЛОГ, необходимый для защитного сигналинга, происходит именно в этой ткани. Таким способом могут быть осуществлены известные антипатогенные свойства этих белков. Если исходить из нашей гипотезы, экспрессия генов ПИН и ЛОГ должны быть ко-регулируемы для их взаимосвязанных функций в защите семян растений при прорастании. Это находит свое отражение и в сходстве влияния этих белков на твердозерность и качество зерна.

Не исключены и другие возможности взаимодействия между ПИН и ЛОГ, или комбинация нескольких альтернатив. Возможно, ПИН могут связываться с липидами, ранее уже окисленными ЛОГ. Есть сообщения о глицеролипидах, содержащих ОФДК и *dinor*-ОФДК, накопление которых инициировалось ЛОГ и стимулировалось ранением у листьев арабидопсиса (Buseman et al., 2006).

Существует пример специфической аддукции оксидом аллена, генерируемым 9-LOX и аллен синтазой липид-переносящего белка LTP1b, что улучшало его липид-трансферную способность (Bakan et al., 2006). Неспецифические LTP структурно похожи на ПИН, и сходство касается и их технологической роли (Marion et al., 2003). Таким образом, вполне возможно, что ПИН также могут быть ковалентно связаны с оксипипинами, образованными ЛОГ. Leonova с соавторами (2010) показали, что окисленные производные ЛК присутствовали в полярных липидах эндосперма овса, что может являться следствием активности ЛОГ.

По нашим данным, у проростков синтетической пшеницы Синбх осмотический стресс не вызывал значимого изменения активности растворимой ЛОГ, но инициировал увеличение уровня активности мембранной ЛОГ (табл. 19, рис. 33, 35). Это находится в соответствии с

полученными нами данными об увеличении интенсивности окраски трех молекулярных форм мембранной ЛОГ (рис. 32). Вероятно, это связано с преимущественным участием мембранной ЛОГ в защите проростков от осмотического стресса у дикого злака.

Таким образом, растворимые и мембранные формы ЛОГ проростков, выявленные нами, с большой долей вероятности, участвуют в мобилизации связанных с поверхностью крахмальных гранул фосфо- и галактолипидов, которые происходят из остатков деградировавших в процессе высыхания семени липидных мембран амилопласта, и вовлечены в гормональный защитный сигналинг в алейроновом слое семян при прорастании.

Есть веские основания полагать, что у гексаплоидной пшеницы сформировался уникальный путь деградации липоксигеназой поверхностно-крахмальных липидов эндосперма, так как он опосредован специфическими для *T. aestivum* L. липидными переносчиками пуриноидолинами, отсутствующими у других видов растений. Он выполняет защитную и сигнальную роль при прорастании семян и стрессе, влияя на формирование текстуры зерна и клейковины.

4.4.3. Растворимые и мембраносвязанные липоксигеназы листьев пшеницы

У ЗЛ ЧС/Синбх в микросомальной белковой фракции листьев на стадии цветения была обнаружена индуцированная засухой изоформа мЛОГ (рис. 38). Корреляция активности этой мЛОГ с параметром Количество зерен в колосе подтверждает ее положительное влияние на зерновую продуктивность в условиях засухи и участие в адаптации при водном дефиците. Уровень цитозольной ЛОГ (р1ЛОГ) у отдельных генотипов увеличивался в условиях недостатка влаги (рис. 46). Возможно, эти изменения тоже выражают адаптивную реакцию на водный стресс и повышение устойчивости к засухе.

Уровень активности растворимой хлоропластно-митохондриальной ЛОГ (растворимая фракция II, р2ЛОГ), во всех исследуемых образцах снижался или достоверно не изменялся в условиях засухи (рис. 47). Известно, что некоторые изоформы ЛОГ могут функционировать в качестве вегетативного запасного белка (ВЗБ), особенно при действии стрессоров (Tranbarger et al., 1991). Возможно, молекулярная форма р2ЛОГ при определенных условиях может терять ферментативную активность и использоваться в качестве ВЗБ для роста и развития растений.

В этом случае логичны уменьшение активности р2ЛОГ при водном дефиците по сравнению с контролем у большинства исследуемых ЗЛ, а также корреляционная зависимость засухоустойчивости генотипов от их конститутивного (контроль) уровня ферментативной активности (табл. 31). Необходимо отметить, что в этом эксперименте

большинство ЗЛ, имевших низкий контрольный ферментативный уровень в растворимых фракциях и (или) значительно снижавших его в условиях водного дефицита, показали высокую активность мЛОГ. Линия с замещением хромосомы 3А, с самой низкой активностью цитозольных ЛОГ, имела наиболее высокий уровень активности мЛОГ (рис. 45). Это говорит о взаимосвязи и взаимодействии между метаболическими путями деградации липидов, катализируемых разными изоферментами ЛОГ и некоторой “компенсации” одного пути другим для обеспечения наилучшей адаптации генотипов к стрессу. Такой же феномен был замечен и при изучении популяции ИРЛ ЧС/Синбх (рис. 50 - 52).

Активности четырех изученных форм фермента в листьях ИРЛ ЧС/Синбх были практически не связаны корреляционно между собой, за исключением активности двух мембранных форм и растворимой и мембранной форм ЛОГ листьев в условиях засухи (табл. 27). Эта связь выявлялась и генетически ко-локализацией ЛКП для их активности (рис. 54).

Наибольшее число локусов (табл. 35, рис. 54) и положительных корреляций с физиологическими признаками (табл. 27) обнаружила активность листРЛОГ, что свидетельствует о преимуществе ее положительного влияния на адаптацию к засухе среди всех форм ЛОГ. Разный характер корреляций со многими параметрами при нормальном водном режиме у листРЛОГ и листМЛОГ может говорить о различии их влияния на газообмен и эффективностью использования воды (ЭИВ). Однако при водном дефиците эти две формы ЛОГ показали сходный характер корреляций с массой побега (МП), содержанием пигментов и скоростью электронного транспорта (СЭТ), что позволяет предполагать их синергическое действие в условиях стресса, направленное на защиту фотосинтеза и сохранение биомассы. Наиболее вероятно, что эти положительные эффекты листРЛОГ и листМЛОГ связаны с синтезом оксипиринов, участвующих в сигнализации и регуляции окислительно-восстановительного баланса в клетке (Shah et al., 2017).

В отличие от листРЛОГ и листМЛОГ, активность растворимой хлоропластной формы фермента показала отрицательные корреляции с СЭТ в условиях вододефицита. Так как уменьшение скорости транспорта электронов в ФСII сопровождается увеличением окисления липидов тилакоидных мембран (Mishra et al., 1992), возможно хлРЛОГ участвует в этом процессе.

Две хлоропластные формы имели независимое наследование и разный характер корреляций с физиологическими признаками. В отличие от хлоропластной мембранной ЛОГ, растворимая хлоропластная форма фермента не была связана с содержанием хлорофиллов. Продукты ЛОГ способны разрушать каротиноиды (Feussner, Wasternack, 2002), но 90-х годов

пошлого века известно, что в окислении каротиноидов в виолаксантиновом цикле и синтезе АБК участвуют не ЛОГ, а каротин-разрушающие диоксигеназы. Положительная корреляция активности обеих хлоропластных ЛОГ с содержанием каротиноидов при нормальном водоснабжении и хлМЛОГ при водном дефиците, может предполагать их причастность на регуляторном уровне, вследствие перекрестной сигнализации АБК и ЖАК (Dave et al., 2011) к нефотохимическому тушению хлорофилла, защищающему фотосинтетический аппарат от деструкции АФК. При суровой засухе (местоположение 1, ИРЛ ЧС/Синбх по хромосомам генома D) активность хлРЛОГ имела значимую на 0.1% уровне корреляцию с нефотохимическим тушением хлорофилла 0.45).

Известно о причастности ЖАК, образованной в результате одного из метаболических путей ЛОГ, к деградации хлорофилла, вследствие старения и абиотического стресса (Van der Graaff et al., 2006). Отрицательные корреляции активности хлоропластных ЛОГ с отношением $X_{\text{ла+b}}/\text{Кар}$ при нормальном водообеспечении могут косвенно свидетельствовать об их участии в деградации хлорофиллов.

При биоинформационном анализе референсного генома *T. aestivum* L. нами были выявлены гены биосинтеза двух изоферментов ЛОГ в области картированного ЛКП, ассоциированного с активностью растворимой ЛОГ листьев (2AL - 99.3 - 115.1 cM). Анализ функций всех генов этого региона по известным в литературе данным показал, что структурные гены фермента относятся к регуляции жасмонатного и пероксигеназного пути ЛОГ и включены в генную сеть регуляции адаптации к стрессу. Таким образом, растворимые ЛОГ листьев пшеницы могут участвовать в образовании трихом и антоцианов, формировании клеточной стенки и кутикулы, а также влиять на перестройку транскрипции в условиях стресса.

Выявленные нами молекулярные формы ЛОГ листьев выполняли разные физиологические функции и принимали дифференцированное участие в адаптации растений пшеницы к засухе. Дальнейшее их изучение представляет интерес для познания биохимических механизмов устойчивости растений к водному дефициту, а генетической регуляции их активности – для создания новых засухоустойчивых генотипов.

На рис. 57 показаны функции липоксигеназы в изученных нами органах растений гексаплоидной пшеницы. Выявленная нами многофункциональность фермента свидетельствует об его участии в разнообразных физиологических процессах у *T. aestivum* L.

Липоксигеназы *Triticum aestivum* L.



Рис. 57. Выявленные функции липоксигеназ разных органов пшеницы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Липоксигеназа, катализирующая окисление полиненасыщенных жирных кислот с образованием гидроперекисей жирных кислот и реагирующая как со свободными жирными кислотами, так и их этерифицированными производными, является одним из ключевых ферментов липидного метаболизма (Grechkin, 1998). Известно, что у растений присутствуют растворимая, цитозольная, вакуолярная и мембранные формы фермента, однако об изоферментах ЛОГ у пшеницы - одной из основных сельскохозяйственных культур мире, было очень мало сведений. В данной работе впервые у *T. aestivum* в разных условиях водоснабжения были изучены изоферментный состав и активность ЛОГ в нескольких белковых фракциях, обогащенных растворимой ЛОГ семян, растворимой и микросомальной ЛОГ проростков и листьев, а также растворимой и мембранной хлоропластными ЛОГ. Мы обнаружили не менее 14 молекулярных форм фермента и показали, что изоферментный состав ЛОГ различался среди генотипов пшеницы при оптимальных и стрессовых условиях выращивания.

Основное применение гексаплоидной пшеницы связано с хлебом, а ЛОГ уже долгое время применяется в качестве его улучшителя (Dunnwind et al., 2002). Однако не было ясного представления о механизме, посредством которого она действует, а роль фермента в определении хлебопекарного качества пшеницы оставалась недостаточно изученной и противоречивой. В нашей работе была объяснена противоречивость влияния ЛОГ семян на качество клейковины гексаплоидной пшеницы. Мы показали, что характер взаимосвязи активности ЛОГ с хлебопекарными признаками (положительный или отрицательный) зависел от уровня ферментативной активности. Наши данные дают основание полагать, что ЛОГ семян необходима при формировании клейковины, определяющей хлебопекарные свойства пшеницы, однако высокий уровень ферментативной активности отрицательно влияет на качество клейковины.

По результатам исследования нами была выдвинута гипотеза о совместном действии ЛОГ и липид-переносящих белков пуриноидинов при мобилизации липидов поверхности крахмальных гранул эндосперма, влияющем на формирование мягкой текстуры эндосперма, прорастание семян и адаптацию к стрессу. Ее дальнейшее подтверждение представляется весьма актуальным для улучшения хлебопекарного качества пшеницы и ее устойчивости к неблагоприятным факторам.

Мобилизация запасных и мембранных липидов и оксипипиновая сигнализация, инициированные липоксигеназой в большой степени определяют выживание растений в

условиях действия различных стрессоров (Mosblech et al., 2009). В нашей работе впервые было изучено влияние водного дефицита на активность разных форм ЛОГ и ее взаимосвязь с биомассой побега, транспирацией, устьичной проводимостью, эффективностью фотосинтеза, зерновой продуктивностью и было выявлено дифференцированное участие липоксигеназ *T. aestivum* в адаптации к засухе.

В процессе длительной селекции, ориентированной на высокую продуктивность и качество клейковины, произошло сильное, по сравнению с дикорастущими сородичами, обеднение генофонда культурных растений по генам, контролирующим признаки устойчивости к вредителям и возбудителям болезней и разным абиотическим факторам. В результате изучения интрогрессии сегментов генома *Ae. taushii* и *T. timopheevii* в геном *T. aestivum* L. мы выявили, что интрогрессия изменяла изоферментный состав ЛОГ, уровень ее активности и других физиологических параметров, а также стратегию адаптации пшеницы к водному дефициту за счет снижения транспирации и увеличения эффективности использования воды. Это показывает перспективность интрогрессии генов ЛОГ диких злаков для улучшения адаптации пшеницы к засухе.

Область генетической регуляции активности ЛОГ у пшеницы ранее была крайне мало исследована, и это касалось только ЛОГ семян. С использованием нескольких пшеничных популяций нами было показано, что генетический контроль активности ЛОГ связан с регуляторными генами на хромосомах разных гомеологических групп, которые модулируют функциональную активность ЛОГ в разных условиях среды. Было показано, что генетическая регуляция ферментативной активности при стрессе более сложная, чем при оптимальных условиях. В нашей работе впервые было проведено генетическое картирование в геноме *T. aestivum* L. локусов количественных признаков, ассоциированных с активностью нескольких форм липоксигеназы при разном водном режиме. Нами была показана как независимая, так и совместная генетическая регуляция активности отдельных форм фермента.

Корреляционная взаимосвязь между активностью нескольких форм ЛОГ и интенсивностью фотосинтеза и газообмена и зерновой продуктивностью в разных условиях выращивания была подтверждена ко-локализацией ЛКП этих признаков в геноме гексаплоидной пшеницы. На основании совокупности полученных данных впервые была выявлена физиологическая роль для нескольких форм липоксигеназы проростков и листьев. Нами было показано, что активность отдельных форм этого фермента у *T. aestivum* связана с выполнением важнейших физиологических функций, таких как мобилизация липидов при

прорастании семян и защитная сигнализация при адаптации растений пшеницы к абиотическому стрессу.

Не изученность генетического контроля липоксигеназы у *T. aestivum* L. была связана с ее сложным полиплоидным геномом и отсутствием данных его секвенирования. В 2018 году Международный консорциум завершил работу по секвенированию генома *T. aestivum*. Воспользовавшись этим ресурсом, мы провели биоинформационный анализ референсного генома *T. aestivum* и идентифицировали гены, составляющие основу ЛКП, обнаруженных нами в трех регионах хромосомы 2AL. Большинство этих генов не изучены у пшеницы и являются аннотированными гомологами генов *A. thaliana*. По результатам анализа литературных данных о функциях этих генов или белков, ими кодируемых, мы выявили генную сеть гормональной регуляции АБК-ЖАК-зависимых путей для перестройки метаболизма при адаптации растений пшеницы к водному дефициту. Были обнаружены аннотированные гомологи двух неизвестных ранее для пшеницы генов биосинтеза ЛОГ, и 50-ти *a priori* кандидатных генов для регуляции ферментативной активности, которые занимают важное место в выявленной нами генной сети. В нашей работе впервые показано вовлечение двух путей липидного метаболизма, инициированных ЛОГ, жасмонатного и пероксигеназного, в адаптацию растений пшеницы к засухе.

Результаты генетического картирования локусов, ассоциированных с активностью ЛОГ, их ко-локализации со всеми изученными физиологическими признаками в нескольких хромосомных регионах и выявление кандидатных генов для регуляции активности ЛОГ привело к пониманию молекулярно-генетического механизма, применяемого *T. aestivum* L. для адаптации к водному дефициту. Было показано, что регуляция перестройки метаболизма липидов и оксипинолиновый сигналинг являются важнейшей частью этого механизма. Наши результаты открывают перспективу дальнейшего исследования выявленных геномных областей с целью их использования в селекции на устойчивость к засухе.

Примененная в нашей работе стратегия выявления физиологических механизмов адаптации к засухе пшеницы путем определения кандидатных генов в хромосомных регионах, где расположены кластеры ЛКП параметров, связанных с засухоустойчивостью, оправдала себя и может быть применима для познания физиологических механизмов сложных полигенных признаков.

В данной работе были представлены результаты комплексного изучения активности липоксигеназы у гексаплоидной пшеницы. В целом полученные результаты позволяют высоко оценить роль липоксигеназы, ее многофункциональность и участие в широком спектре физиологических процессов у *T. aestivum* L.

ВЫВОДЫ

1. Изоферментный состав и уровень активности растворимых и мембраносвязанных липоксигеназ в проростках и листьях *T. aestivum* L. различается в зависимости от генотипа и условий выращивания. Изоферментный состав растворимых липоксигеназ семян одинаков у всех исследованных генотипов.

2. Предполагается, что ЛОГ участвует в формировании мягкой текстуры эндосперма пшеничного зерна посредством утилизации поверхностно-крахмальных липидов и синергичного действия с пуриноидолинами. Характер влияния ЛОГ на хлебопекарное качество пшеницы (положительный или отрицательный) определяется уровнем ее активности и связан с уменьшением растяжимости клейковины.

3. Интрогрессия сегментов генома *T. timopheevii* и *Ae. taushii* в геном *T. aestivum* привносит гены изоферментов ЛОГ диких злаков; при этом меняется стратегия адаптации пшеницы к засухе путем снижения транспирации, устьичной проводимости и увеличения эффективности использования воды.

4. На хромосомах 2-ой, 4-ой, 5-ой и 7-ой гомеологических групп гексаплоидной пшеницы картированы 18 ЛКП, ассоциированных с активностью растворимой ЛОГ семян, растворимой и мембранной форм ЛОГ проростков и листьев и двух хлоропластных форм фермента. 67 % локусов были выявлены в условиях водного дефицита. На хромосоме 2D обнаружены два ЛКП, связанные с изменением под влиянием засухи уровня активности растворимой ЛОГ листьев и хлоропластной мембранной ЛОГ.

5. Кластеры ЛКП для параметров газообмена, флуоресценции хлорофилла, биомассы побега, биометрических показателей или зерновой продуктивности, выявленные на хромосомах 2D, 4D, 5D, 7D мягкой пшеницы в условиях водного дефицита ко-локализованы с ЛКП, ассоциированными с вариабельностью активности разных форм ЛОГ.

6. Два кластера ЛКП для параметров газообмена, флуоресценции хлорофилла, биомассы побега, фенологических характеристик и компонентов урожая, выявленные на хромосоме 2A гексаплоидной пшеницы ко-локализованы с ЛКП для активности растворимой ЛОГ листьев. Показано, что регион 2AL 149.5-151.3 сМ регулирует взаимодействие сигнальных путей АБК-ЖАК, а регион 2AL 99.3 - 115.1 сМ связан с транскрипционной перестройкой регуляции метаболизма при стрессе.

7. В регионах 2AL – 149.5-151.3 сМ и 2AL - 99.3 - 115.1 сМ генома *T. aestivum* L. отобраны 52 кандидатных гена для регуляции активности ЛОГ. Они связаны с жасмонатным и пероксигеназным направлениями липоксигеназного пути метаболизма липидов, и

занимают ключевые места в генной сети гормональной регуляции адаптации пшеницы к засухе.

8. Установлены физиологические функции для нескольких форм липоксигеназы пшеницы. Растворимая ЛОГ семян участвует в формировании клейковины. Растворимая и микросомальная формы ЛОГ проростков участвуют в катаболизме липидов поверхности крахмальных гранул эндосперма. Растворимая и микросомальная формы ЛОГ листьев играют положительные роли при адаптации пшеницы к засухе. Растворимая ЛОГ хлоропластов причастна к нефотохимическому тушению хлорофилла, но не влияет на устойчивость пшеницы к засухе. Хлоропластная мембранная форма фермента связана с фотосинтетическими пигментами и эффективностью использования воды в условиях вододефицита.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Василенко И.И. Оценка качества зерна. Справочник / И.И. Василенко, В.И. Комаров // М.: Агропромиздат, 1987. 207 с.
2. Гайдаленок Р.Ф. Межсортовое замещение хромосом мягкой пшеницы Саратовская 29/Янецкис Пробат и сравнительная оценка используемых методов / Р.Ф. Гайдаленок // Характеристика генома некоторых видов сельскохозяйственных растений; под ред. В.К. Шумного, А.М. Орловой и Е.В. Левитеса – Новосибирск: ИЦиГ СО АН СССР, 1990. С. 198–210.
3. Гончаров Н.П. Сравнительная генетика пшениц и их сородичей / Н.П. Гончаров // Новосибирск: АИ «Гео», 2012. – 523 с.
4. Давоян Р.О. Синтетические формы как основа для сохранения и использования генофонда диких сородичей мягкой пшеницы / Р.О. Давоян, И.В. Бебякина, О.Р. Давоян, А.Н. Зинченко, Э.Р. Давоян, А.М. Кравченко, Ю.С. Зубанова // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2012. – Т. 16 (1). — С. 44–51.
5. Давыдов В.А. Количественные характеристики устьичного аппарата растений яровой пшеницы сорта Саратовская 29 при остром дефиците воды / В.А. Давыдов // Сельскохозяйственная биология. – 2007. – № 5. – С. 90–93.
6. Жуковский П.М. Наиболее высокоиммунный эндемичный генофонд для выведения устойчивых сортов пшеницы путем отдаленной гибридизации / П.М. Жуковский, Э.Ф. Мигушова // Вестн. с.-х. науки. – 1969. – Т. 2. – С. 9–20.
7. Журбицкий З.И., Теория и практика вегетационного метода / З.И. Журбицкий // М.: Наука, 1968. – 260 с.
8. Ильина Л.Г. Селекция яровой мягкой пшеницы на Юго–Востоке. Саратов: Изд–во Саратовского ун–та, 1989. – 160 с.
9. Кретович В.Л. Роль биохимии в пищевой промышленности / В.Л. Кретович // Техническая биохимия – М.: Наука, 1973. – 115 с.
10. Конарев В.Г. Белки пшеницы / В.Г. Конарев // М.: Колос, 1980. – 351 с.
11. Лапочкина И.Ф. Линии мягкой пшеницы с генетическим материалом *Aegilops Speltoides* Tausch / И.Ф. Лапочкина, Д.А. Соломатин, Г.В. Сержкина, Е.Е. Гришина, Х.С. Вишнякова, В.А. Пухальский // Генетика. – 1996. – Т. 32 (12). – С. 1651–1656.
12. Леонова И.Н. Генетический анализ и локализация локусов, контролирующих устойчивость интрогрессивных линий *Triticum aestivum* × *Triticum timopheevii* к листовой ржавчине / И.Н. Леонова, М.С. Родер, Н. П. Калинина, Е.Б. Будашкина // Генетика. – 2008. – Т. 44. – С. 1652–1659.
13. Леонова И.Н. Молекулярные маркеры: Использование в селекции зерновых культур для идентификации, интрогрессии и пирамидирования генов / И.Н. Леонова // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2013. – Т. 17 (2). – С. 314–325.
14. Леонова И.Н. Молекулярно–генетическое разнообразие интрогрессивных линий мягкой пшеницы (*T. aestivum*/*T. timopheevii*) / И.Н. Леонова, О.А. Орловская, М.С. Родер, М.А. Нестеров, Е.В. Будашкина // Вавиловский журнал генетики и селекции. — 2014. — Т. 17. – С. 681–690.
15. Методика Государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур М.: Госагропром. 1988. 122 с.
16. Обухова Л.В. Качество зерна и муки у интрогрессивных линий яровой мягкой пшеницы с генами устойчивости к листовой ржавчине от *Triticum timopheevii* Zhuk. / Л.В. Обухова, Е.Б. Будашкина, М.Ф. Ермакова, Н.П. Калинина, В.К. Шумный // Сельскохозяйственная биология. – 2008. – № 5. – С. 38–42.

17. Першина Л.А. Хромосомная инженерия растений – направление биотехнологии / Л.А. Першина // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2014. — Т. 18 (1). – С. 138–145.
18. Полесская О.Г. Изменение активности антиоксидантных ферментов в листьях и корнях пшеницы в зависимости от формы и дозы азота в среде / О.Г. Полесская, Е.И. Каширина, Н.Д. Алехина // Физиология растений. – 2004. – Т. 51 (5). – С. 686–691.
19. Пшеничникова Т.А., Майстренко О.И. Изучение ранних этапов создания замещённых линий пшеницы Диамант/Новосибирская 67 по экспрессии генов глиадина // Генетика. – 1990. – Т. 26 (5). – С. 965–970.
20. Пшеничникова Т.А. Технологические качества зерна и муки мягкой пшеницы в линиях с межсортовым замещением хромосом 1 и 6 гомеологических групп / Т.А. Пшеничникова, М.Ф. Ермакова, Р.К. Попова // Сельскохозяйственная биология. – 2006. – № 1. – С. 57–62.
21. Пшеничникова Т.А. Молекулярное картирование локусов, связанных с показателями качества зерна мягкой пшеницы / Т.А. Пшеничникова, М.Ф. Ермакова, А.К. Чистякова Л.В. Шукина, А. Бёрнер, М. Рёдер // Сельскохозяйственная биология. – 2006. – № 5. – С 41–47.
22. Пшеничникова Т.А. Картирование локусов количественных признаков (QTL), ассоциированных с показателями качества зерна мягкой пшеницы, выращенного в различных условиях среды / Т.А. Пшеничникова, М.Ф. Ермакова, А.К. Чистякова, Л.В. Шукина, Е.В. Березовская, У. Лохвассер, М. Рёдер, А. Бёрнер // Генетика. – 2008. – Т. 44 (1). – С. 74–84.
23. Пшеничникова Т.А. Картирование локусов количественных признаков (QTL), ассоциированных с активностью дисульфидредуктазы и липоксигеназы в зерне мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. / Т.А. Пшеничникова, С.В. Осипова, М.Д. Пермьякова, Т.Н. Митрофанова, У. Лохвассер, М. Рёдер, А. Бёрнер // Генетика. – 2008. – Т. 44 (5). – С. 654–662.
24. Смарагдов М.Г. Тотальная геномная селекция с помощью SNP как возможный ускоритель традиционной селекции / М.Г. Смарагдов // Генетика. – 2009. – Т. 45. – С. 725–728.
25. Созинов А.А. Полиморфизм белков и его значение в генетике и селекции / А.А. Созинов // М.: Наука, 1985. – 272 с.
26. Тарчевский И.А. Метаболизм растений при стрессе (избранные труды) / И.А. Тарчевский // Казань: Фэн, 2001. – 448 с.
27. Тимонова Е.М. Влияние отдельных участков хромосом *Triticum timopheevii* на формирование устойчивости к болезням и количественные признаки мягкой пшеницы / Е.М. Тимонова, И.Н. Леонова, И.А. Белан, Л.П. Россеева, Е.А. Салина // Вавил. журн. генет. и селекции. – 2012. – Т.16 (1). – С. 142–159.
28. Труфанов В.А. Клейковина пшеницы: проблемы качества / В.А. Труфанов // Новосибирск: Наука, 1994. – 166 с.
29. Хедрик Ф. Генетика популяций / Ф. Хедрик // М.: Техносфера, 2003. – 592 с.
30. Хлесткина Е.К. Молекулярные методы анализа структурно–функциональной организации генов и геномов высших растений / Е.К. Хлесткина // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2011. – Т.15 (4). – С. 757–768.
31. Хлесткина Е.К. Молекулярные маркеры в генетических исследованиях и в селекции // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2013. – Т. 17 (4/2). – С. 1044–1054.
32. Хлесткина Е.К. Геном пшеницы – конструктор в руках исследователей. [Электронный ресурс] Публичная лекция. 2014. Режим доступа: http://www.bionet.nsc.ru/asp/?page_id=86.

33. Хлесткина Е.К. Реализация генетического потенциала сортов мягкой пшеницы под влиянием условий внешней среды: современные возможности улучшения качества зерна и хлебопекарной продукции (обзор) / Е.К. Хлесткина, Е.В. Журавлева, Т.А. Пшеничникова, Н.И. Усенко, Е.В. Морозова, С.В. Осипова, М.Д. Пермьякова, Д.А. Афонников, Ю.С. Отмахова // *Сельскохозяйственная биология*. – 2017. – Т. 52 (3). – С. 501–514.
34. Чесноков Ю.В. Картирование QTL водного режима у яровой мягкой пшеницы / Ю.В. Чесноков, Э.А. Гончарова, М.Н. Ситников, Н.В. Кочерина, У. Ловассер, А. Бёрнер // *Физиология растений*. – 2014. – Т. 61. – С. 855–863.
35. Шуколюков С.А. Нативный электрофорез в протеомике клетки: VN и CN_PAGE / С.А. Шуколюков // *Цитология*. – 2011. – Т. 53. – С. 159–165.
36. Abe H. Role of arabidopsis MYC and MYB homologs in drought – and abscisic acid–regulated gene expression / H. Abe, K. Yamaguchi–Shinozaki, T. Urao, T. Iwasaki, K. Shinozaki // *Plant Cell*. – 1997. – V. 10. – P. 1859–1868.
37. Abe H. Arabidopsis *AtMYC2*(bHLH) and *AtMYB2*(MYB) function as transcriptional activators in abscisic acid signaling / H. Abe, T. Urao, T. Ito, M. Seki, K. Shinozaki, K. Yamaguchi–Shinozaki // *Plant Cell*. – 2003. – V. 15. – P. 63–78.
38. Abonyi T. Gluten formation from flour of kernels in developing wheat grain / T. Abonyi, S. Tomoskozi, Sz. Gergely, E. Scholz, D. Lasztity, R. Lasztity // *Cereal Res. Commun.* – 2010. – V. 38. – P. 90–100.
39. Acosta I.F. Tasselseed1 is a lipoxygenase affecting jasmonic acid signaling in sex determination of maize / I.F. Acosta, H. Laparra, S.P. Romero, E. Schmelz, M. Hamberg, J.P. Mottinger, M.A. Moreno, S.L. Dellaporta // *Science*. – 2009. – V. 323. – P. 262–265.
40. Acuna–Galindo M.A. Meta–analysis of wheat QTL regions associated with adaptation to drought and heat stress / M.A. Acuna–Galindo, R.E. Mason, N.K. Subramanian, D.B. Hays // *Crop Sci.* – 2015. – V. 55. – P. 477–492.
41. Addison C.K. QTL and major genes influencing grain yield potential in soft red winter wheat adapted to the southern United States / C.K. Addison, R.E. Mason, G. Brown–Guedira, M. Guedira, Y. Hao, R. G. Miller, N. Subramanian, D. N. Lozada, A. Acuna, M.N. Arguello, J.W. Johnson, A.M.H. Ibrahim, R. Sutton, A.H. Stephen // *Euphytica*. – 2016. – V. 209 (3). – P. 665–677.
42. Agarwal P. Chromosome mapping of four novel mutants in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) / P. Agarwal, V. Jaiswal, S. Kumar, H.S. Balyan, P.K. Gupta // *Acta Physiol Plant*. – 2015. – V. 37. – Article 66. Режим доступа: <https://doi.org/10.1007/s11738-015-1775-1>.
43. Ahmad M.Q. Identification of QTLs for drought tolerance traits on wheat chromosome 2A using association mapping / M.Q. Ahmad, S.H. Khan, A.S. Khan, A.M. Kazi, S.M.A. Basra // *Int J Agric Biol*. – 2014. – V. 16. – P. 862–870.
44. Ai L. Coronatine alleviates polyethylene glycol–induced water stress in two rice (*Oryzasativa* L.) cultivars / L. Ai, Z.H. Li, Z.X. Xie, X.L. Tian, A.E. Eneji, L.S. Duan // *J Agron Crop. Sci.* – 2008. – V. 194. – P. 360–368.
45. Ain Q. Genome–wide association for grain yield under rainfed conditions in historical wheat cultivars from Pakistan / Q. Ain, A. Rasheed, A. Anwar, T. Mahmood, M. Imtiaz, T. Mahmood, X. Xia, Z. He, U.M. Quraishi // *Front Plant Sci*. – 2015. – V. 6. – Article 43. Режим доступа: <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00743>.
46. Alcazar–Roman A.R. Inositol polyphosphates: a new frontier for regulating gene expression / A.R. Alcazar–Roman, S.R. Wentе // *Chromosoma*. – 2008. – V. 117 (1). – P. 1–13.
47. Alexander L.M. Mapping and quantitative trait loci analysis of drought tolerance in a spring wheat population using amplified fragment length polymorphism and diversity array technology markers / L.M. Alexander, F.M. Kirigwi, A.K. Fritz, J.P. Fellers // *Crop Sci.* – 2012. – V. 52. – P. 254–261.

48. Allen B.L. The Mediator complex: a central integrator of transcription / B.L. Allen, D.J. Taatjes // *Nat Rev Mol Cell Biol.* – 2015. – V. 16 (3). – P. 155–166.
49. Almeida J. Down-regulation of tomato *PHYTOL KINASE* strongly impairs tocopherol biosynthesis and affects prenyl lipid metabolism in an organ-specific manner / J. Almeida, M.daS.Azevedo, L. Spicher, G. Glauser, K. Dorp, L. Guyer, A. delV. Carranza, R. Asis, A.P. de Souza, M. Buckeridge, D. Demarco, C. Bres, C. Rothan, L.E.P. Peres, S. Hörtensteiner, F. Kessler, P. Dörmann, F. Carrari, M. Rossi // *J Exp Bot.* – 2016. – V. 67 (3). – P. 919–934.
50. Alméras E. Reactive electrophile species activate defense gene expression in *Arabidopsis* / E. Almeras, S. Stolz, S.Vollenweider, P. Reymond, L. Mene-Saffrane, E.E. Farmer // *Plant J.* – 2003. – V. 34. – P. 205–210.
51. An C. Mediator subunit MED25 links the jasmonate receptor to transcriptionally active chromatin / C. An, L. Li, Q. Zhai, Y. You, L. Deng, F. Wu, R. Chen, H. Jiang, H. Wang, Q. Chen, C. Li // *PNAS.* – 2017. – V. 114 (42). – P. E8930–E8939.
52. Anjum S.A. Effect of exogenous methyl jasmonate on growth, gas exchange and chlorophyll contents of soybean subjected to drought / S.A. Anjum, X. Xie, M. Farooq, L. Wang, L. Xue, M. Shahbaz // *Afr J Biotechnol.* – 2011. V. 10. – P. 9640–9646.
53. Appels A. Advances in cereal functional genomics / A. Appels, M. Francki, R. Cribbar // *Funct Integr Genomic.* – 2003. – V. 3. – P. 1–24.
54. T. Arakawa. Compositional Difference of Wheat Flour Glutens in Relation to Their Aggregation Behaviors / T. Arakawa, D. Yonezawa // *Agric Biol Chem.* – 1975. – V. 39 (11). – P. 2123–2128.
55. Araus J.L. Plant breeding and water relations in C3 cereals: what should we breed for ? / J.L. Araus, G.A. Slafer, M.P. Reynolds, C. Royo // *Ann Bot.* – 2002. – V. 89 (7). – P. 925–940.
56. Arbuzova V.S. The development of precise genetic stocks in two wheat cultivars and their use in genetic analysis / V.S. Arbuzova, T.T. Efremova, L.I. Laikova, O.I. Maystrnko, O.M. Popova, T.A. Pshenichnikova // *Euphytica.* – 1996. – V. 89. – P. 11–15.
57. Aubert Y. RD20, a Stress-inducible caleosin, participates in stomatal control, transpiration and drought tolerance in *Arabidopsis thaliana* / Y. Aubert, D. Vile, M. Pervent, D. Aldon, B. Ranty, T. Simonneau, A. Vavasseur, J.-P. Galaud // *Plant Cell Physiol.* – 2010. – V. 51(12). – P. 1975–1987.
58. Baalbaki R. *Aegilops* species from semiarid areas of Lebanon: Variation in quantitative attributes under water stress / R. Baalbaki, N. Hajj-Hassan, R. Zurayk // *Crop Sci.* – 2006. – V. 46. – P. 799–806.
59. Bahal G. Wheat germ lipoxygenase: its effect on dough rheology, microstructure, and bread making quality / G. Bahal, M.L. Sudha, P.R. Ramasarma. // *Int J Food Properties.* – 2013. – V. 16. – P. 1730–1739.
60. Bahrani M.J. Effect of water stress on ten forage grasses native or introduced to Iran // M.J. Bahrani, H. Bahrami, A.A.K. Haghghi // *Grass Sci.* – 2010. – V. 56. – P. 1–5.
61. Baier M. Antisense suppression of 2-cysteine peroxiredoxin in *Arabidopsis* specifically enhances the activities and expression of enzymes associated with ascorbate metabolism but not glutathione metabolism / M. Baier, G. Noctor, C. Foyer, K.J. Dietz // *Plant Physiol.* 2000. – V. 124. – P. 823–832.
62. Bak G. Rapid structural changes and acidification of guard cell vacuoles during stomatal closure require phosphatidylinositol 3,5-bisphosphate / G.Bak, E.G. Lee, M. Kato, S. Segami, N. Sze, M. Maeshima, J.U. Hwang, Y. Lee // *Plant Cell.* – 2013. – V. 25 (6). – P. 2202–2216.
63. Bakan B. Specific adduction of plant lipid transfer protein by an allene oxide generated by 9-lipoxygenase and allene oxide synthase / B. Bakan, M. Hamberg, L. Perrocheau, D.

- Maume, H. Rogniaux, O. Tranquet, C. Rondeau, J.P. Blein, M. Ponchet, D. Marion // *J Biol Chem.* – 2006. – V. 281. – P. 38981–38988.
64. Bako A. In vitro starch-binding experiments: study of the proteins related to grain hardness of wheat / A. Bako, M. Gardonyi, L.Tamas // *Wheat production in stressed environments*; eds H.T. Buck, J.E. Nisi, N. Salomon. – 2005. Dordrecht, Netherlands: Springer. – P. 685–691.
65. Balazadeh S. A gene regulatory network controlled by the NAC transcription factor ANAC092/AtNAC2/ORE1 during salt-promoted senescence / S. Balazadeh, H. Siddiqui, A.D. Allu, L.P. Matallana-Ramirez, C. Caldana, M. Mehrnia, M.-I. Zanol, B. Köhler, B. Mueller-Roeber // *Plant J.* – 2010. – V. 62. – P.250–264.
66. Baldoni E. Plant MYB Transcription Factors: Their Role in Drought Response Mechanisms / E. Baldoni, A. Genqa, E. Cominelli // *Int J Mol Sci.* – 2015. – V. 16 (7). – P. 15811–15851.
67. Balyan H. S. Genetic improvement of grain protein content and other health-related constituents of wheat grain / H.S. Balyan, P.K. Gupta, S. Kumar, R. Dhariwal, V. Jaiswal, S. Tyagi, P. Agarwal, V. Gahlaut, S. Kumari // *Plant Breeding.* – 2013. – V. 132. – P. 446–457.
68. Band L.R. Multiscale systems analysis of root growth and development: Modeling beyond the network and cellular scales / L.R. Band, J.A. Fozard, C. Godin // *Plant Cell.* – 2012a. – V. 24. – P. 3892–3906.
69. Bandurska H. The effect of jasmonic acid on the accumulation of ABA, proline and spermidine and its influence on membrane injury under water deficit in two barley genotypes / H. Bandurska, A. Stroinski, J. Kubis // *Acta Physiol Plant.* – 2003. – V. 25. – P. 279–285.
70. Bannenberg G. Diversity of the enzymatic activity in the lipoxygenase gene family of *Arabidopsis thaliana* / G. Bannenberg, M. Martínez, M. Hamberg, C. Castresana // *Lipids.* – 2009. – V. 44. – Article 85. Режим доступа: <https://doi.org/10.1007/s11745-008-3245-7>.
71. Bañuelos G. R. The developmental transition to flowering in *Arabidopsis* is associated with an increase in leaf chloroplastic lipoxygenase activity / G. R. Bañuelos, R. Argumedo, K. Patel, V. Ng, F. Zhou, R.L. Vellanoweth // *Plant Sci.* – 2008. – V. 174 (3). – P. 366–373.
72. Barakat M.N. Mapping of QTLs associated with abscisic acid and water stress in wheat / M.N. Barakat, M.S. Saleh, A.A. Al-Doss, K.A. Moustafa, A.A. Elshafei, A.M. Zakri, F.H. Al-Qurainy // *Biol. Plant.* – 2015. – V. 59. – P. 291–297.
73. Barone R. Purification and characterization of the lipoxygenase enzyme from durum wheat semolina / R. Barone, R. Briante, S. D'Auria, F. Febbraio, C. Vaccaro, L.D. Giudice, G.M. Borrelli, N. Di Fonzo, R. Nucci // *J Agric. Food Chem.* – 1999. – V. 47 (5). – P. 1924–1931.
74. Baud F. Crystal structure of hydrophobic protein from soybean: a member of a new cysteine-rich family / F. Baud, E. Pebay-Peyroula, C. Cohen-Addad, S. Odani, M.S. Lehmann // *J Mol Biol.* – 1993. – V. 231. – P. 877–887.
75. Bechtold U. Molecular mechanisms controlling plant growth during abiotic stress / U. Bechtold, B. Field // *J Exp Bot.* – 2018. – V. 69 (11). – P. 2753–2758.
76. Besseau S. WRKY54 and WRKY70 co-operate as negative regulators of leaf senescence in *Arabidopsis thaliana* / S. Besseau, J. Li, E.T. Palva // *J Exp Bot.* – 2012. – V. 63. – P. 2667–2679.

77. Bhave M. Molecular genetics of puroindolines and related genes: allelic diversity in wheat and other grasses / M. Bhave, C.F. Morris // *Plant Mol Biol.* – 2008. – V. 66 (3). – P. 205–219.
78. Biswas S.C. Interfacial behavior of wheat puroindolines: study of adsorption at the air–water interface from surface tension measurement using Wilhelmy plate method / S.C. Biswas, L. Dubreil, D. Marion // *J Colloid Interface Sci.* – 2001. – V. 244. – P. 245–253.
79. Blein J.P. From elicitors to lipid–transfer proteins: a new insight in cell signalling involved in plant defence mechanisms / J.P. Blein, P. Couthos–Thevenot, D. Marion, M. Ponchet // *Trends Plant Sci.* – 2002. – V. 7. – P. 293–296.
80. Blée E. Envelop membranes from spinach chloroplasts are a site of metabolism of fatty acid hydroperoxides / E. Blée, J. Joyard // *Plant Physiol.* – 1996. – V. 110. – P. 445–454.
81. Bohland C. Differential induction of lipoxygenase isoforms in wheat upon treatment with rust fungus elicitor, chitin oligosaccharides, chitosan, and methyl jasmonate / C. Bohland, T. Balkenhold, G. Loers, I. Feussner, H.J. Grambow // *Plant Physiol.* – 1999. – V. 114. – P. 679–685.
82. Bonaventure G. Revealing complexity and specificity in the activation of lipase–mediated oxylipin biosynthesis: a specific role of the *Nicotiana attenuata* GLA1 lipase in the activation of jasmonic acid biosynthesis in leaves and roots / G. Bonaventure, S. Schuck, I.T. Baldwin // *Plant Cell Environ.* – 2011a. – V. 34. – P. 1507–1520.
83. Bonaventure G. Herbivore–associated elicitors: FAC signaling and metabolism / G. Bonaventure, A. Van Doorn, I.T. Baldwin // *Trends in Plant Sci.* – 2011b. – V. 16. – P. 294–299.
84. Bonnin I. Explaining the decrease in the genetic diversity of wheat in France over the 20th century / I. Bonnin, C. Bonneuil, R. Goffaux, P. Montalent, I. Goldringer // *Agriculture, Ecosystems and Environment.* – 2014. – V. 195. – P. 183–192.
85. Bonora M. Role of the c subunit of the FO ATP synthase in mitochondrial permeability transition / M. Bonora, A. Bononi, E. De Marchi, C. Giorgi, M. Lebieczinska, S. Marchi, S. Patergnani, A. Rimessi, J.M. Suski, A. Wojtala, M.R. Wieckowski, G. Kroemer, L. Galluzzi, P. Pinton // *Cell Cycle.* – 2013. – V. 12 (4). – P. 674–683.
86. Borner A. Mapping of quantitative trait loci determining agronomic important characters in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) / A. Borner, E. Schumann, A. Furste, H. Coster, B. Leithold, S. Röder, E. Weber // *Theor Appl Genet.* – 2002. – V. 105. – P. 921–936.
87. Borrelli G.M. Durum wheat lipoxygenase activity and other quality parameters that affect pasta color / G.M. Borrelli, A. Troccoli, N. Di Fonzo, C. Fares // *Cereal Chem.* – 1999. – V. 76 (3). – P. 335–340.
88. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein–dye binding / M.M. Bradford // *Analyt. Biochem.* – 1976. – V. 72. – P. 248–254.
89. Braidot E. Biochemical and immunochemical evidences for the presence of lipoxygenase in plant mitochondria / E. Braidot, E. Petrusa, S. Micolini, F. Tubaro, A. Vianello, F. Macri // *J. Exp. Bot.* – 2004. – V. 55 (403). – P. 1655–1662.
90. Brash A.R. Lipoxygenase: occurrence, function, catalysis, and acquisition of substrate / A.R. Brash // *J. Biol. Chem.* – 1999. – V. 274(34). – P. 23679–23682.

91. Brenchley R. Analysis of the bread wheat genome using whole-genome shotgun sequencing / R. Brenchley, M. Spannagl, M. Pfeifer, G.L.A. Barker, R. D'Amore, A.M. Allen, N. McKenzie, M. Kramer, A. Kerhornou, D. Bolser, S. Kay, D. Waite, M. Trick, I. Bancroft, Y. Gu, N. Huo, M.-C. Luo, S. Sehgal, S. Kianian, B. Gill, O. Anderson, P. Kersey, J. Dvorak, R. McCombie, A. Hall, K. F.X. Mayer, K.J. Edwards, M.W. Bevan, N. Hall // *Nature*. – 2012. – V. 491(7426). – P. 705–710.
92. Browse J. Jasmonate passes muster: a receptor and targets for the defense hormone / J. Browse // *Ann Rev Plant Biol*. – 2009a. – V. 60. – P. 183–205.
93. Browse J. Jasmonate: preventing the maize tassel from getting in touch with his feminine side / J. Browse // *Science Signalling*. – 2009b. – V. 2 (59). – Article pe9. Режим доступа: <https://doi.org/10.1126/scisignal.259pe9>.
94. Browse J. The power of mutants for investigating jasmonate biosynthesis and signaling / J. Browse // *Phytochemistry*. – 2009 c. – V. 70. – P. 1539–1546.
95. Budak H. Proteome changes in wild and modern wheat leaves upon drought stress by two-dimensional electrophoresis and nanoLC-ESI-MS/MS / H. Budak, B.A. Akpinar, T. Unver, M. Turktas // *Plant Mol. Biol*. – 2013. – V. 83. – P. 89–103.
96. Budashkina E. Cytogenetic study of introgressive disease-resistant common wheat lines / E. Budashkina // *Tag. Ber. Acad. Landwirtsch. Wiss. DDR*. – 1988. – V. 206. – P. 209–212.
97. Budashkina E.B. Development and genetic analysis of common wheat introgressive lines resistant to leaf rust / E.B. Budashkina, N.P. Kalinina // *Acta Phytopathol Entomol* – 2001. – V. 36. – P. 61–65.
98. Buhot N. Modulation of the biological activity of a tobacco LTP1 by lipid complexation / N. Buhot, E. Gomès, M.-L. Milat, M. Ponchet, D. Marion, J. Lequeu, S. Delrot, P. Coutos-Theóvenot, J.-P. Blein // *Mol Biol Cell*. – 2004. – V. 15. – P. 5047–5052.
99. Burow G.B. A peanut seed lipoxygenase responsive to *Aspergillus* colonization / G.B. Burow, H.W. Gardner, N.P. Keller // *Plant Mol Biol*. – 2000. – V. 42. – P. 689–701.
100. Buseman C.M. Wounding stimulates the accumulation of glycerolipids containing oxophytodienoic acid and dinor-oxophytodienoic acid in arabidopsis leaves / C.M. Buseman, P. Tamura, A.A. Sparks, E.J. Baughman, S. Maatta, J. Zhao, M.R. Roth, S.W. Esch, J. Shah, T.D. Williams, R. Welti // *Plant Physiol*. – 2006. – V. 142. – P. 28–39.
101. Cai H. Pleiotropic effects of TaMYB3R1 on plant development and response to osmotic stress in transgenic Arabidopsis / H. Cai, S. Tjan, H. Dong, C. Guo // *Gene*. – 2015. – V. 558(2). – P. 227–34.
102. Camacho C. BLAST+: Architecture and applications / C. Camacho, G. Coulouris, V. Avagyan, N. Ma, J. Papadopoulos, K. Bealer, T.L. Madden // *BMC Bioinformatics*. – 2009. – V. 10. – Article 421. Режим доступа: <https://doi.org/10.1186/1471-2105-10-421>.
103. Campbell B.T. Identification of QTLs and environmental interactions associated with agronomic traits on chromosome 3A of wheat / B.T. Campbell, P.S. Baenziger, K.S. Gill, K.M. Eskridge, H. Budak, M. Erayman, I. Dweikat, Y. Yen // *Crop Sci*. – 2003. – V. 43. – P. 1493–1505.
104. Cao F.Y. Arabidopsis ETHYLENE RESPONSE FACTOR 8 (ERF8) has dual functions in ABA signaling and immunity / F.Y. Cao, T.A. DeFalco, W. Moeder, B. Li, Y. Gong, X.-M. Liu, M. Taniguchi, S. Lumba, S. Toh, L. Shan, B. Ellis, D. Desveaux, K. Yoshioka //

- BMC Plant Biol. – 2018. – V. 18. – Article 211. Режим доступа: <http://dx.doi.org/10.1186/s12870-018-1402-6>.
105. Capparelli R. Cloning and expression of two plant proteins: similar antimicrobial activity of native and recombinant form / R. Capparelli, D. Palumbo, M. Iannaccone, I. Ventimiglia, E. Di Salle, F. Capuano, P. Salvatore, M.G. Amoroso // *Biotechnol Lett.* – 2006. – V. 28. – P. 943–949.
 106. Carceller J. SDS-insoluble glutenin polymer formation in developing grains of hexaploid wheat: the role of the ratio of high to low molecular weight glutenin subunits and drying rate during ripening / J. Carceller, T. Aussenac // *Aust. J. Plant Physiol.* – 2001 – V. 28. – P. 193–201.
 107. Caro E. A chromatin link that couples cell division to root epidermis patterning in *Arabidopsis* / E. Caro, M.M. Castellano, C. Gutierrez // *Nature.* – 2007. – V. 447 (7141). – P. 213–217.
 108. Carrera A. A deletion at the *Lpx-B1* locus is associated with low lipoxygenase activity and improves pasta color in durum wheat (*Triticum turgidum spp. durum*) / A. Carrera, V. Echenique, W. Zhang, M. Helguera, F. Manthey, A. Schrager, A. Picca, G. Cervigni, J. Dubcovsky // *J Cereal Sci.* – 2007. – V. 45. – P. 67–77.
 109. G. Cassin-Ross. Systematic phenotypic screen of *Arabidopsis* peroxisomal mutants identifies proteins involved in β -oxidation / G. Cassin-Ross, J. Hu // *Plant Physiol.* – 2014. – V. 166. – P. 1546–1559.
 110. Cattivelli L. Drought tolerance improvement in crop plants: an integrated view from breeding to genomics / L. Cattivelli, F. Rizza, F.-W. Badeck, E. Mazzucotelli, A.M. Mastrangelo, E. Francia, C. Marè, A. Tondelli, A. M. Stanca // *Field Crops Res.* – 2008. – V. 105. – P. 1–14.
 111. Cevik V. MEDIATOR25 acts as an integrative hub for the regulation of jasmonate-responsive gene expression in *Arabidopsis* / V. Cevik, B.N. Kidd, P. Zhang, C. Hill, S. Kiddle, K.J. Denby, E.B. Holub, D.M. Cahill, J.M. Manners, P.M. Schenk, J. Beynon, K. Kazan // *Plant Physiol.* – 2012. – V. 160. – P. 541–555.
 112. Chan D.I. Tryptophan- and arginine-rich antimicrobial peptides: structures and mechanisms of action / D.I. Chan, E.J. Prenner, H.J. Vogel // *Biochim Biophys Acta Biomem.* – 2006. – V. 1758. – P. 1184–1202.
 113. Chang Y.-Y. Metabolic instability of *Escherichia coli* cyclopropane fatty acid synthase is due to RpoH-dependent proteolysis / Y.-Y. Chang, J. Eichel, J.E. Cronan, JR // *J Bacteriology* – 2000. – V. 182 (15). – P. 4288–4294.
 114. Chantret N. Molecular basis of evolutionary events that shaped the hardness locus in diploid and polyploid wheat species (*Triticum* and *Aegilops*) / N. Chantret, J. Salse, F. Sabot, S. Rahman, A. Bellec, B. Laubin, I. Dubois, C. Dossat, P. Sourdille, P. Joudrier, M.F. Gautier, L. Cattolico, M. Beckert, S. Aubourg, J. Weissenbach, M. Caboche, M. Bernard, P. Leroy, B. Chalhouh // *Plant Cell.* – 2005. – V. 17. – P. 1033–1045.
 115. Charmet G. Implementation of genome-wide selection in wheat / G. Charmet, E. Storlie // *Вавилов. журн. генет. и селекции.* – 2012. – Т. 16. – С. 61–68.
 116. Chaves M.M. Understanding plant responses to drought—from genes to the whole plant / M.M. Chaves, J.P. Maroco, J.S. Pereira // *Funct. Plant Biol.* – 2003. – V. 30. – P. 239–264.

117. Chen F. Molecular and biochemical characterization of puroindoline a and b alleles in Chinese landraces and historical cultivars / F. Chen, Z.H. He, X.C. Xia, L.Q. Xia, X.Y. Zhang, M. Lillemo, C.F. Morris // *Theor Appl Genet.* – 2006. – V. 112. – P. 400–409.
118. Chen F.F. Physical mapping of puroindoline b–2 genes and molecular characterization of a novel variant in durum wheat (*Triticum turgidum* L.) / F.F. Chen, H.–X. Xu, F.–Y. Zhang, X.–C. Xia, Z.–H. He, D.–W. Wang, Z.–D. Dong, K.–H. Zhan, X.–Y. Cheng, D.–Q. Cui // *Mol. Breeding.* – 2011. – V. 28. – P. 153–161.
119. Chen Q. The basic helix–loop–helix transcription factor MYC2 directly represses PLETHORA expression during jasmonate–mediated modulation of the root stem cell niche in *Arabidopsis* / Q. Chen, J. Sun, Q. Zhai, W. Zhou, L. Qi, L. Xu, B. Wang, R. Chen, H. Jiang, J. Qi, X. Li, K. Palme, C. Li // *Plant Cell.* – 2011. – V. 23. – P. 3335–3352.
120. Chen L. Development and characterization of a new TILLING population of common bread wheat (*Triticum aestivum* L.) / L. Chen, L. Huang, D. Min, A. Phillips, S. Wang, P.J. Madgwick, Y.G. Hu // *PLoS ONE.* – 2012. – V. 7. – Article e41570. Режим доступа: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0041570>.
121. Chen R. The *Arabidopsis* mediator subunit MED25 differentially regulates jasmonate and abscisic acid signaling through interacting with the MYC2 and ABI5 transcription factors / R. Chen, H. Jiang, L. Li, Q. Zhai, L. Qi, W. Zhou, X. Liu, H. Li, W. Zheng, J. Sun, C. Li // *Plant Cell.* – 2012. – V. 24. – P. 2898–2916.
122. Chen L. *Arabidopsis* BPM proteins function as substrate adaptors to a CULLIN3–based E3 ligase to affect fatty acid metabolism in plants / L. Chen, J. Hyun Lee, H. Weber, T. Tohge, S. Witt, S. Roje, A.R. Fernie, H. Hellmann // *Plant Cell.* – 2013. – V. 25. – P. 2253–2264.
123. Chen Z.–Y. Genome–wide characterization of developmental stage– and tissue–specific transcription factors in wheat / Z.–Y. Chen, X.–J. Guo, Z.–X. Chen, W.–Y. Chen, D.–C. Liu, Y.–L. Zheng, Y.–X. Liu, Y.–M. Wei, J.–R. Wang // *BMC Genomics.* – 2015. – V. 16 (1). – Article 25. Режим доступа: <https://doi.org/10.1186/s12864-015-1313-y>.
124. Chen X. POWERDRESS interacts with HISTONE DEACETYLASE 9 to promote aging in *Arabidopsis* / X. Chen, L. Lu, K. S Mayer, M. Scalf, S. Qian, A. Lomax, L. M Smith, X. Zhong // *eLife.* – 2016. – V. 5. – Article e17214. Режим доступа: <https://doi.org/10.7554/eLife.17214>.
125. Cheng H. Gibberellin acts through jasmonate to control the expression of MYB21, MYB24, and MYB57 to promote stamen filament growth in *Arabidopsis* / H. Cheng, S. Song, L. Xiao, H.M. Soo, Z. Cheng, D. Xie, J. Peng // *PLoS Genetics.* – 2009. – V. 5. – Article e1000440. Режим доступа: <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000440>.
126. Cheng M.–C. The *Arabidopsis* ETHYLENE RESPONSE FACTOR1 regulates abiotic stress responsive gene expression by binding to different cis–acting elements in response to different stress signals / M.–C. Cheng, P.–M. Liao, W.–W. Kuo, T.–P. Lin // *Plant Physiol.* – 2013. – V. 162. – P. 1566–1582.
127. Chini A. The JAZ family of repressors is the missing link in jasmonate signalling / A. Chini, S. Fonseca, G. Fernandez, B. Adie, J.M. Chico, O. Lorenzo, G. Garcia–Casado, I. López–Vidriero, F.M. Lozano, M.R. Ponce, J.L. Micol, R. Solano // *Nature.* – 2007. – V. 448. – P. 666–671.

128. Chisuga T. Structural analysis of the dual-function thioesterase SAV606 unravels the mechanism of Michael addition of glycine to an α , β -unsaturated thioester / T. Chisuga, A. Miyanaga, F. Kudo, X.T. Eguchi // *J Biol Chem.* – 2017. – V. 292 (26). – P. 10926–10937.
129. Christopher J.T. Stay-green traits to improve wheat adaptation in well-watered and water-limited environments // J.T. Christopher, M.J. Christopher, A.K. Borrell, S. Fletcher, K. Chenu // *J Exp Bot.* – 2016. – V. 67. – P. 5159–5172.
130. Clouse S.D. Brassinosteroid signal transduction: clarifying the pathway from ligand perception to gene expression / S.D. Clouse // *Mol Cell.* – 2002. – V. 10. – P. 973–982.
131. Colebrook E.H. The role of gibberellin signaling in plant responses to abiotic stress / E.H. Colebrook, S.G. Thomas, A.L. Phillips, P. Hedden // *J Exp Biol.* – 2014. – V. 217. – P. 67–75.
132. Colmer T.D. Use of wild relatives to improve salt tolerance in wheat / T.D. Colmer, T.J. Flowers, R. Munns // *J Exp Bot.* – 2006. – V. 57 (5). – P. 1059–1078.
133. Cooper D.J. Role of beer lipid-binding proteins in preventing lipid destabilization of foam / D.J. Cooper, F.A. Husband, E.N.C. Mills, P.J. Wilde // *J Agric Food Chem.* – 2002. – V. 50 (26). – P. 645–7650.
134. Cornish G.B. Prediction of dough properties for bread wheats / G.B. Cornish, F. Békés, H.A. Eagles, P.I. Payne // *Gliadin and Glutenin. The unique balance of wheat quality*; eds. C. Wrigley, F. Békés, W. Bushuk – AACC International, 2006. – P. 243–279.
135. Costigan S.E. Root-localized phytochrome chromophore synthesis is required for homeostatic regulation of root elongation and impacts root sensitivity to jasmonic acid in *Arabidopsis* / S.E. Costigan, S.N. Warnasooriya, B.A. Humphries, B.L. Montgomery // *Plant Physiol.* – 2011. – V. 157. – P. 1138–1150.
136. Coutos-Thevenot P. Four 9-kDa proteins excreted by somatic embryos of grapevine are isoforms of lipid-transfer proteins / P. Coutos-Thevenot, T. Jouenne, O. Maes, J.P. Le Caer, M. Boulay, A. Deloire, J.C. Kader, J. Guern // *Eur J Biochem.* – 1993. – V. 217. – P. 885–889.
137. Courtois F. *Escherichia coli* cyclopropane fatty acid synthase / F. Courtois, C. Guérard, X. Thomas, O. Ploux // *Eur J Biochem.* – 2004. – V. 271 (23-24). – P. 4769–4778.
138. Cumbee B. Soybean flour lipoxygenase isozymes. Effect on wheat flour dough rheological and breadmaking properties / B. Cumbee, D.F. Hildebrand, K. Addo // *J Food Sci.* – 1997. – V. 62. – P. 281–283.
139. Cutler S.R. Abscisic acid: emergence of a core signaling network / S.R. Cutler, P.L. Rodriguez, R.R. Finkelstein, S.R. Abrams // *Ann Rev Plant Biol.* – 2010. – V. 61. – P. 651–679.
140. Da Costa M.M. Physiological adaptations of perennial grasses to drought stress / M.M. Da Costa, B. Huang // *Perspectives in biophysical plant ecophysiology*, eds. E. De La Barrera and, W.K. Smith – México: Universidad Nacional Autónoma de México., 2009. – P. 169–190.
141. Danisman S. *Arabidopsis* class I and class II TCP transcription factors regulate jasmonic acid metabolism and leaf development antagonistically / S. Danisman, F. van der Wal, S. Dhondt, R. Waites, S. de Folter, A. Bimbo, A.D.J. van Dijk, J.M. Muino, L. Cutri, M. C. Dornelas, G. C. Angenent, R.G.H. Immink // *Plant Physiol.* – 2012. – V. 159. – P. 1511–1523.

142. Daszkowska–Golec A. Open or close the gate—stomata action under the control of phytohormones in drought stress conditions / A. Daszkowska–Golec, I. Szarejko // *Front Plant Sci.* – 2013. – V. 4. – Article 138. Режим доступа: <https://doi:10.3389/fpls.2013.00138>.
143. Dave A. 12–Oxo–phytodienoic acid accumulation during seed development represses seed germination in *Arabidopsis* / A. Dave, M.L. Hernández, Z. He, V.M. Andriotis, F.E. Vaistij, T.R. Larson, A. Graham // *Plant Cell.* – 2011. – V. 23. – P. 583–599.
144. Davies C.S. Flavor improvement of soybean preparations by genetic removal of lipoxygenase–2 / C.S. Davies, S.S. Nielsen, N.C. Nielsen // *J Am. Oil Chem Soc.* – 1987. – V. 64. – P. 1428–1433.
145. Davis B.J. Disc electrophoresis. II. Method and application to human serum proteins / B.J. Davis // *Ann N Y Acad Sci.* – 1964. – V. 121. – P. 404–427.
146. Davoine C. Adducts of oxylipin electrophiles to glutathione reflect a 13 specificity of the downstream lipoxygenase pathway in the tobacco hypersensitive response / C. Davoine, O. Falletti, T. Douki, G. Iacazio, N. Ennar, J.L. Montillet, C. Triantaphylides // *Plant Physiol.* – 2006. – V. 140 – P. 1484–1493.
147. Deckard E.L. Grain protein determinants of the Langdon durum–diccoides chromosome substitution lines / E.L. Deckard, L.R. Joppa, J.J. Hammond, G.A. Hareland // *Crop Sci.* – 1996. – V. 36 (6). – P. 1513–1516.
148. De Domenico S. Transcriptomic analysis of oxylipin biosynthesis genes and chemical profiling reveal an early induction of jasmonates in chickpea roots under drought stress / S. De Domenico, S. Bonsegna, R. Horres, V. Pastor, M. Taurino, P. Poltronieri, M. Imtiaz, G. Kahl, V. Flors, P. Winter, A. Santino // *Plant Physiol Biochem.* – 2012. – V. 61. – P. 115–122.
149. De Geyter N. Transcriptional machineries in jasmonate–elicited plant secondary metabolism / N. De Geyter, A. Gholami, S. Goormachtig, A. Goossens // *Trends in Plant Sci.* – 2012. – V. 17. – P. 349–359.
150. De Lamotte F. Glutathione reductase in wheat grain. 1. Isolation and characterization / F. De Lamotte, N. Vianey–Liaud, M. Duviau, K. Kobrehel // *J Agric Food Chem.* – 2000. – V. 48. – P. 4978–4983.
151. Delcour J.A. Principles of cereal science and technology / J.A. Delcour, R.C. Hosenev // AACC International (3–rd ed.): St. Paul, MN, 2010. – 270 p.
152. De Ollas C. Physiological impacts of ABA–JA interactions under water–limitation / C. De Ollas, I.C. Dodd // *Plant Mol Biol.* – 2016. – V. 91. – P. 641–650.
153. Dermastia M. Increased level of cytokinin ribosides in jasmonic acid–treated potato (*Solanum tuberosum*) stem node cultures / M. Dermastia, M. Ravnikar, B. Vilhar, M. Kovač // *Physiol Plant.* – 1994. – V. 92. – P. 241–246.
154. Devi U. Development and characterisation of interspecific hybrid lines with genome–wide introgressions from *Triticum timopheevii* in a hexaploid wheat background / U. Devi, S. Grewal, C. Yang, S. Hubbart–Edwards, D. Scholefield, S. Ashling, A. Burrige, I.P. King, J. King // *BMC Plant Biol.* – 2019. – V. 19. – Article 183. Режим доступа: <https://doi.org/10.1186/s12870-019-1785-z>.

155. Dervinis C. Cytokinin primes plant responses to wounding and reduces insect performance / C. Dervinis, C.J. Frost, S. D. Lawrence, N.G. Novak, J.M. Davis // *J Plant Growth Regul.* – 2010. – V. 29. – P. 289–296.
156. Desikan R. Regulation of the *Arabidopsis* transcriptome by oxidative stress / R. Desikan, S.A.–H. Mackerness, J.T. Hancock, S.J. Neill // *Plant Physiol.* – 2001. – V. 127. – P. 159–172.
157. De Simona V. Different mechanisms control lipoxygenase activity in durum wheat kernels / V. De Simona, V. Menzo, A.M. De Leonardis, D.B.M. Ficco, D. Trono, L. Cattivelli, P. De Vita // *J Cereal Sci.* – 2010. – V. 52. – P. 121–128.
158. Distelfeld A. Physical map of the wheat high–grain protein content gene *Gpc-B1* and development of a high–throughput molecular marker / A. Distelfeld, C. Uauy, T. Fahima, J. Dubcovsky // *New Phytologist.* – 2006. – V. 169. – P. 753–763.
159. Dobra J. Comparison of hormonal responses to heat, drought and combined stress in tobacco plants with elevated proline content / J. Dobra, V. Motyka, P. Dobrev, J. Malbeck, I.T. Prasil, D. Haisel, A. Gaudinova, M. Havlova, J. Gubis, R. Vankova // *J Plan Physiol.* – 2010. – V. 167. – P. 1360–1370.
160. Domoney C. Pisum lipoxygenase genes / C. Domoney, R. Casey, L. Turner, N. Ellis // *Theor Appl Genet.* – 1991. – V. 81. – P. 800 – 805.
161. Don C. Glutenin macropolymer: a gel formed by glutenin particles / C. Don, W. Lichtendonk, J.J. Plijter, R.J. Hamer // *J Cereal Sci.* – 2003. – V. 37. – P. 1–7.
162. Douliez J.P. Mini review: Structure, biological and technological functions of lipid transfer proteins and indolines, the major lipid binding proteins from cereal kernels / J.P. Douliez, T. Michon, K. Elmorjani, D. Marion // *J Cereal Sci.* – 2000. – V. 32. – P. 1–20.
163. Du H. Endogenous auxin and jasmonic acid levels are differentially modulated by abiotic stresses in rice / H. Du, Liu, L. Xiong // *Front Plant Sci.* – 2013. – V. 4. – Article 397. Режим доступа: <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00397>.
164. Dubcovsky J. Genetic map of diploid wheat *Triticum monococcum* L., and its comparison with maps of *Hordeum vulgare* L. / J. Dubcovsky, M.–C. Luo, G.–Y. Zhong, R. Bransteitter, A. Desai, A. Kilian, A. Kleinhofs, J. Dvorak // *Genetics.* – 1996. – V. 143. – P. 983–999.
165. Dubreil L. Spatial and temporal distribution of the major isoforms of puroindolines (puroindoline–a and puroindoline–b) and nonspecific lipid transfer protein (ns–LTPle1) of *Triticum aestivum* seeds. Relationships with their in vitro antifungal properties / L. Dubreil, T. Gaborit, B. Bouchet, D.J. Gallant, W.F. Broekaert, L. Quillien, D. Marion // *Plant Sci.* – 1998. – V. 138. – P. 121–135.
166. Dubreil L. Localization of puroindoline–a and lipids in bread dough using confocal scanning laser microscopy / L. Dubreil, S.C. Biswas, D. Marion // *J Agric Food Chem.* – 2002. V. 50. – P. 6078–6085.
167. Dueckershoff K. Impact of cyclopentenone–oxylipins on the proteome of *Arabidopsis thaliana* / K. Dueckershoff, S. Mueller, M.J. Mueller, J. Reinders // *Biochim Biophys Acta.* – 2008. – V. 1784. – P. 1975–1985.
168. Dunnewind B. Effect of oxidative enzymes on bulk rheological properties of wheat flour doughs / B. Dunnewind, T. van Vliet, R. Orsel // *J Cereal Sci.* – 2002. – V. 36. – P. 357–366.

169. Eagles H.A. Contributions of glutenin and puroindoline genes to grain quality traits in southern Australian wheat breeding programs / H.A. Eagles, K. Cane, R.F. Eastwood, G.J. Hollamby, H. Kuchel, P.J. Martin, G.B. Cornish // *Austr J Agric Res.* – 2006. – V. 57 (2). – P. 179–186.
170. Edae E.A. Genome-wide association mapping of yield and yield components of spring wheat under contrasting moisture regimes / E.A. Edae, P.F. Byrne, S.D. Haley, M.S. Lopes, M.P. Reynolds // *Theor Appl Genet.* – 2014. – V. 127. – P. 791–807.
171. Egawa C. Differential regulation of transcript accumulation and alternative splicing of a *DREB2* homolog under abiotic stress conditions in common wheat / C. Egawa, F. Kobayashi, M. Ishibashi, T. Nakamura, C. Nakamura, S. Takumi // *Genes Genet Syst.* – 2006. – V. 81. – P. 77–91.
172. Ellis M.H. “Perfect” markers for the *Rht-B1b* and *Rht-D1b* dwarfing genes / M.H. Ellis, W. Spielmeyer, K.R. Gale, G.J. Rebetzke, R.A. Richards // *Theor Appl Gen.* – 2002. – V. 105. – P. 1038–1042.
173. Elouafi I. Identification of a microsatellite on chromosome 7B showing a strong linkage with yellow pigment in durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. *durum*) / I. Elouafi, M.M. Nachit, L.M. Martin // *Hereditas.* – 2001. – V. 135. – P. 255–261.
174. Erb M. Role of phytohormones in insect-specific plant reactions / M. Erb, S. Meldau, G.A. Howe // *Trends in Plant Sci.* – 2012. – V. 17. – P. 250–259.
175. Ergen N.Z. Sequencing over 13 000 expressed sequence tags from six subtractive cDNA libraries of wild and modern wheats following slow drought stress / N.Z. Ergen, H. Budak // *Plant, Cell and Environment.* – 2009. – V. 32. – P. 220–236.
176. Every D. Ascorbate oxidase, protein disulfide isomerase, ascorbic acid, dihydroascorbic acid and protein levels in developing wheat kernels and their relationship to protein disulfide bond formation / D. Every, W.B. Griffin, P.E. Wilson // *Cereal Chem.* – 2003. – V. 80 (1). – P. 35–39.
177. Every D. Distribution of redox enzymes in millstreams and relationships to chemical and baking properties of flour / D. Every, L.D. Simmons, M.P. Ross // *Cereal Chem.* – 2006. – V. 83 (1). – P. 62–68.
178. Farmaki T. Differential distribution of the lipoxygenase pathway enzymes within potato chloroplasts / T. Farmaki, M. Sanmartin, P. Jimener, M. Paneque, C. Sanz, G. Vancanneyt, J. Leon, J.J. Sanchez-Serrano // *J Exp Bot.* – 2007. – V. 58. – P. 555–568.
179. Farshadfar E. Multivariate analysis of drought tolerance in wheat substitution lines / E. Farshadfar, J. Sutka // *Cereal Res Commun.* – 2003. – V. 31 (1/2). – P. 33–40.
180. Faubion J.M. Lipoxygenase: its biochemistry and role in breadmaking / J.M. Faubion, R.C. Hoseney // *Cereal Chem.* – 1981. – V. 58. – P. 175–180.
181. Feiz L. In planta mutagenesis determines the functional regions of the wheat puroindoline proteins / L. Feiz, B. Beecher, J.M. Martin, M.J. Giroux // *Genetics.* – 2009a. – V. 183. – P. 853–860.
182. Feiz L. Puroindolines co-localize to the starch granule surface and increase seed-bound polar lipid content / L. Feiz, H.W. Wanjugi, C.W. Melnyk, I. Altosaar, J.M. Martin, M.J. Giroux // *J Cereal Sci.* – 2009b. – V. 50. – P. 91–98.

183. Feldman M. Genome Plasticity in Polyploid Wheat / M. Feldman, A.A. Levy, B. Chalhoub, K. Kashkush // *Polyploidy and genome evolution*; eds. P.S. Soltis, D. Soltis. – Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg, – 2012. – P. 109–135.
184. Feng B. Molecular analysis of lipoxygenase (LOX) genes in common wheat and phylogenetic investigation of LOX proteins from model and crop plants / B. Feng, Z. Dong, Z. Xu, X. An, H. Qin, N. Wu, D. Wang, T. Wang // *J Cereal Sci.* – 2010. – V. 52. – P. 387–394.
185. Feng B. Molecular characterization of a novel type of lipoxygenase (LOX) gene from common wheat (*Triticum aestivum* L.) / B. Feng, Z.Y. Dong, Z.B. Xu, D.W. Wang, T. Wang // *Mol Breed.* – 2012. – V. 30. – P. 113–124.
186. Fernández-Calvo P. The Arabidopsis bHLH transcription factors MYC3 and MYC4 are targets of JAZ repressors and act additively with MYC2 in the activation of jasmonate responses / P. Fernández-Calvo, A. Chini, G. Fernández-Barbero, J.-M. Chico, S. Gimenez-Ibanez, J. Geerinck, D. Eeckhout, F. Schweizer, M. Godoy, J.M. Franco-Zorrilla, L. Pauwels, E. Witters, M.I. Puga, J. Paz-Ares, A. Goossens, P. Reymond, G. De Jaeger, R. Solano // *Plant Cell.* – 2011. – V. 23. – P. 701–715.
187. Feussner I. Particulate and soluble lipoxygenase isoenzymes – comparison of molecular and enzymatic properties / I. Feussner H. Kindl // *Planta.* – 1994. – V. 94. – P. 22–28.
188. Feussner I., Lipoxygenase-catalyzed oxygenation of storage lipids is implicated in lipid mobilization during germination / I. Feussner, C. Wasternack, H. Kindl, H. Kühn // *PNAS* – 1995. – V. 92. – P. 11849–11853.
189. Feussner I. All three acyl moieties of trilinolein are efficiently oxygenated by recombinant His-tagged lipid body lipoxygenase in vitro / I. Feussner, A. Bachmann, M. Höhne, H. Kindl // *FEBS Lett.* – 1998. – V. 431. – P. 433–436.
190. Feussner I. Lipoxygenase catalyzed oxygenation of lipids / I. Feussner, C. Wasternack // *Fett. Lipid.* – 1998. – V. 100. – P. 146–152.
191. Feussner I. The lipoxygenase dependent degradation of storage lipids / H. Kühn, C. Wasternack // *Trends Plant Sci.* – 2001. – V. 6. – P. 268–273.
192. Feussner I. The Lipoxygenase Pathway / I. Feussner, C. Wasternack // *Annu Rev Plant Biol.* – 2002. – V. 53. – P. 275–297.
193. Ficco D.B.M. The colours of durum wheat: a review / D.B.M. Ficco, A.M. Mastrangelo, D. Trono, G.M. Borrelli, P. De Vita, C. Fares, R. Beleggia, C. Platani, R. Papa // *Crop Pasture Sci.* – 2014. – V. 65. – P. 1–15.
194. Finnie S.M. Variation in polar lipids located on the surface of wheat starch / S.M. Finnie, R. Jeannotte, C.F. Morris, M.J. Giroux, J.M. Faubion // *J Cereal Sci.* – 2010. – V. 51. – P. 73–80.
195. Finzel K. Using modern tools to probe the structure–function relationship of fatty acid synthases / K. Finzel, D. J. Lee, M. D. Burkart // *Chembiochem.* – 2015. – V. 16 (4). – P. 528–547.
196. Fiorani F. Future scenarios for plant phenotyping / F. Fiorani, U. Schurr // *Annu Rev Plant Biol.* – 2013. – V. 64. – P. 267–291.
197. Fleury S. Genetic and genomic tools to improve drought tolerance in wheat / S. Fleury, H. Jefferies, H. Kuchel, P. Langridge // *J Exp Bot.* – 2010. – V. 61 (12). – P. 3211–3222.

198. Franco–Zorrilla J.M. DNA–binding specificities of plant transcription factors and their potential to define target genes / J.M. Franco–Zorrilla, I. López–Vidriero, J.L. Carrasco, M. Godoy, P. Vera, R. Solano // PNAS. – 2014. – V. 111 (6). – P. 2367–2372.
199. Frazier P.J. Lipid–protein interactions during dough development / P.J. Frazier // Lipids in Cereal Technology, ed. P.J. Barnes, Academic Press, New York. – 1983. – P. 189–212.
200. Freire A. The face–inversion effect as a deficit in the encoding of configural information: direct evidence / A. Freire, K. Lee, L.A. Symons // Perception. – 2000. – V. 29 (2). – P. 159–70.
201. Froehlich J.E. Tomato allene oxide synthase and fatty acid hydroperoxide lyase, two cytochrome P450s involved in oxylipin metabolism, are targeted to different membranes of chloroplast envelop / J.E. Froehlich, A. Itoh, G.A. Howe // Plant Physiol. – 2001. – V. 125. – P. 306–317.
202. Fu B.X. Pigment loss from semolina to dough: rapid measurement and relationship with pasta colour / B.X. Fu, L. Schlichting, C.J. Pozniak, A.K. Singh // J Cereal Sci. – 2013. – V. 57. – P. 560–566.
203. Fuerst E.P. Genetic characterization of kernel polyphenol oxidases in wheat and related species / E.P. Fuerst, S.S. Xu, B. Beecher // J Cereal Sci. – 2008. – V. 48. – P. 359–368.
204. Fujita M. Crosstalk between abiotic and biotic stress responses: a current view from the points of convergence in the stress signaling networks / M. Fujita, Y. Fujita, Y. Noutoshi, F. Takahashi, Y. Narusaka, K. Yamaguchi– Shinozaki, K. Shinozaki // Curr Opin Plant Biol. – 2006. – V. 9. – P. 436–442.
205. Gahlaut V. Transcription factors involved in drought tolerance and their possible role in developing drought tolerant cultivars with emphasis on wheat (*Triticum aestivum* L.) / V. Gahlaut, V. Jaiswal, A. Kumar, P.K. Gupta // Theor Appl Genet. – 2016. – V. 29. – P. 2019–2042.
206. Galiba G. Possible chromosomal location of genes determining the osmoregulation of wheat / G. Galiba, L. Simon–Sarkadi, G. Kocsy, A. Salgo, J. Sutka // Theor Appl Genet. – 1992. – V. 85 4). – P. 415–418.
207. Caldelari D. Arabidopsis *lox3 lox4* double mutants are male sterile and defective in global proliferative arrest / D. Caldelari, G. Wang, E. Farmer, X. Dong // Plant Mol Biol. – 2011. – V. 75. – P. 25–33.
208. Gan Z. The microstructure and gas retention of bread dough / Z. Gan, R.E. Angold, M.R. Williams, P.R. Ellis, J.G. Vaughan, T. Galliard // J Cereal Sci. – 1990. – V. 12. – P. 15–24.
209. Ganeva G. Effects of chromosome substitutions on copper toxicity tolerance in wheat seedlings / G. Ganeva, S. Landjeva, M. Merakchijaska // Biol plant. – 2003. – V 47 (4). – P. 621–623.
210. Garbus I. Physical mapping of durum wheat lipoxygenase genes / I. Garbus, A.D. Carrera, J. Dubcovsky, V. Echenique // J Cereal Sci. – 2009. – V. 50. – P. 67–73.
211. Garbus I. Identification, mapping and evolutionary course of wheat *lipoxygenase–1* genes located on the A genome / I. Garbus, D. Soresi, J. Romero, V. Echenique // J Cereal Sci. – 2013. – V. 58 (2). – P. 298–304.
212. Gardner H.W. Recent investigations into the lipoxygenase pathway of plants / H.W. Gardner // Biochim Biophys Acta. – 1991. – V. 1084. – P. 221–239.

213. Garg B. A study of the role of gene *TaMYB2* and an associated SNP in dehydration tolerance in common wheat / B. Garg, C. Lata, M. Prasad // *Mol Biol Rep.* – 2012. – V. 39. – P. 10865–10871.
214. Garg M. Development of an *Aegilops longissima* substitution line with improved bread-making quality / M. Garg, R. Kumar, R.P. Singh, H. Tsujimoto // *J Cereal Sci.* – 2014. – V. 60. – P. 389–396.
215. Gao X.–P. Jasmonic acid is involved in the water–stress–induced betaine accumulation in pear leaves plant / X.–P. Gao, X.–F. Wang, L.–Y. Zhang, Y.–Y. Shen, Z. Liang, D.–P. Zhang // *Plant Cell Environ.* – 2004. – V. 27. – P. 497–507.
216. Gayatri G. Nitric oxide in guard cells as an important secondary messenger during stomatal closure / G. Gayatri, S. Agurla, A.S. Raghavendra // *Front. Plant Sci.* – 2013. – V. 4. – Article 425. Режим доступа: <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00425>.
217. Geng H. Molecular markers for tracking variation in lipoxygenase activity in wheat breeding / H. Geng, Y. Zhang, Z. He, L. Zhang, R. Appels, Y. Qu, X. Xia // *Mol. Breed.* – 2011. – V. 28 (1). – P. 117–126.
218. Geng H.W. Development of functional markers for a lipoxygenase gene *TaLox–B1* on chromosome 4BS in common wheat / H.W. Geng, X.C. Xia, L.P. Zhang, Y.Y. Qu, Z.H. He // *Crop Sci.* – 2012. – V. 52. – P. 568–576.
219. Gerwick W.H. Structure and biosynthesis of marine algal oxylipins / W.H. Gerwick // *Biochim Biophys Acta.* – 1994. – V. 1211. – P. 243–255.
220. Gfeller A. *Arabidopsis* jasmonate signaling pathway / A. Gfeller, R. Liechti, E.E. Farmer // *Sci Signal.* – 2010. – V. 3 (109). – Article см4. Режим доступа: <https://doi.org/10.1126/scisignal.3109cm4>.
221. Giannopolitis C.N. Superoxide dismutase. 1. Occurrence in higher plants / C.N. Giannopolitis, S.K. Ries // *Plant Physiol.* – 1977. – V. 59. – P. 309–314.
222. Gidda S.K. Biochemical and molecular characterization of a hydroxyjasmonate sulfotransferase from *Arabidopsis thaliana* / S.K. Gidda, O. Miersch, A. Levitin, J. Schmidt, C. Wasternack, L. Varin // *J Biol Chem.* – 2003. – V. 278 (20), P. 17895–17900.
223. Gidda S.K. Lipid droplet–associated proteins (LDAPs) are required for the dynamic regulation of neutral lipid compartmentation in plant cells / S.K. Gidda, S. Park, M. Pys, O. Yurchenko, Y. Cai, P. Wu, D.W. Andrews, K.D. Chapman, J.M. Dyer, R.T. Mullen // *Plant Physiol.* – 2016. – V. 170. – P. 2052–2071.
224. Giroux M.J. Wheat grain hardness results from highly conserved mutations in the friabilin components puroindoline a and b / M.J. Giroux, C.F. Morris // *PNAS.* – 1998. – V. 95. – P. 6262–6266.
225. Glauser G. Velocity estimates for signal propagation leading to systemic jasmonic acid accumulation in wounded *Arabidopsis* / G. Glauser, L. Dubugnon, S.A. Mousavi, S. Rudas, J.L. Wolfender, E.E. Farmer // *J. Biol. Chem.* – 2009. – V. 284 (50). – P. 34506–34513.
226. Göbel C. Methods for the analysis of oxylipins in plants / C. Göbel, I. Feussner // *Phytochemistry.* – 2009. – V. 70. – P. 1485–1503.
227. González–Thuillier I. Distribution of lipids in the grain of wheat (cv. Hereward) determined by lipidomic analysis of milling and pearling fractions / I. González–Thuillier, L. Salt, G. Chope, S. Penson, P. Skeggs, P. Tosi, S.J. Powers, J.L. Ward, P. Wilde, P.R. Shewry, R.P. Haslam // *J Agric Food Chem.* – 2015. – V. 63. – P. 10705–10716.

228. Gras P.W. Gluten protein functionality in wheat flour processing: a review / P.W. Gras, R.S. Anderssen, M. Keentok, F. Békés, R. Appels // *Austr J Agric Res.* – 2001. – V. 52. – P. 1311–1223.
229. Gray W.M. Hormonal regulation of plant growth and development / W.M. Gray // *PLoS Biol.* – 2004. – V. 2. – Article e311. Режим доступа: <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0020311>.
230. Grechkin A. N. Recent development in biochemistry of the plant lipoxygenase pathways / A. N. Grechkin // *Prog. Lipid Res.* – 1998. – V. 37. – P. 317–352.
231. Grechkin A.N. The lipoxygenase pathway in tulip (*Tulipa gesneriana*): detection of the ketol route / A. N. Grechkin, Mukhtarova L.S., Namberg M. // *Biochem. J.* – 2000. – V. 352. – P. 501–509.
232. Greenblatt G.A. Relationship between endosperm texture and the occurrence of friabilin and bound polar lipids on wheat starch / G.A. Greenblatt, A.D. Bettge, C.F. Morris // *J Cereal Chem.* – 1995. – V. 72 (2). – P.172–176.
233. Greenwell P. A starch granule protein associated with endosperm softness in wheat / P. Greenwell, J.D. Schofield // *Cereal Chem.* – 1986. – V. 63. – P. 379–80.
234. Gregory TR. Insertion–deletion biases and the evolution of genome size / TR. Gregory // *Gene* – 2004. – V. 324. – P. 15–34.
235. Griffiths A. Ethylene and developmental signals regulate expression of lipoxygenase genes during tomato fruit ripening / A. Griffiths, C. Barry, A.G. Alpuche – Solis, D. Grierson // *J Exp Bot.* – 1999. – V. 50. – P. 793–798.
236. Groos C. Genetic analysis of grain protein–content, grain yield and thousand–kernel weight in bread wheat / C. Groos C., N. Robert, E. Bervas, G. Charmet // *Theor Appl Genet.* – 2003. – V. 106. – P. 1032–1040.
237. Grunewald W. Expression of the Arabidopsis jasmonate signalling repressor JAZ1/TIFY10A is stimulated by auxin / W. Grunewald, B. Vanholme, L. Pauwels, E. Plovie, D. Inzé, G. Gheysen, A. Goossens // *EMBO Reports.* – 2009. – V. 10 (8). – P. 923–928.
238. Guelette B.S. Indication of lipids/lipid signaling in the phloem exudates from *Arabidopsis thaliana* / B.S. Guelette, U.F. Benning, S. Hoffmann–Benning // *J Exp Bot.* – 2012. – V. 63 (10). – P. 3603–3616.
239. Gutjahr C. Weights in the balance: Jasmonic acid and salicylic acid signaling in root–biotroph interactions / C. Gutjahr, U. Paszkowski // *Mol Plant–Microbe Interac.* – 2009 – V. 22. – P. 763–772.
240. Gutierrez L. Auxin controls Arabidopsis adventitious root initiation by regulating jasmonic acid homeostasis / L. Gutierrez, G. Mongelard, K. Floková, D.I. Păcurar, O. Novák, P. Staswick, M. Kowalczyk, M. Păcurar, H. Demailly, G. Geiss, C. Bellin // *Plant Cell.* – 2012. – V. 24. – P. 2515–2527.
241. Gupta A. Preferential phospholipase A2 activity on the oil bodies in cotyledons during seed germination in *Helianthus annuus* L. cv. Morden / A. Gupta, SC. Bhatla // *Plant Sci.* – 2007. – V. 172 (3). – P. 535–543.
242. Gupta P.K. QTL Analysis for drought tolerance in wheat: present status and future possibilities / P.K. Gupta, H.S. Balyan, V. Gahlaut // *Agronomy.* – 2017. – V. 7. – Article 5. Режим доступа: <https://doi.org/10.3390/agronomy7010005>.

243. Hamer R.R. Understanding the structure and properties of gluten: and overview / R.R. Hamer, T. van Vliet // *Wheat gluten*, eds. P.R. Shewry, A.S. Tatham. – Royal Society of Chemistry: London, UK, 2000. – P. 125–131.
244. Hanano A. Specific caleosin / peroxygenase and lipoxygenase activities are tissue-differentially expressed in date palm (*Phoenix dactylifera* L.) seedlings and are further induced following exposure to the toxin 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin / A. Hanano, I. Almousally, M. Shaban, F. Rahman, M. Hassan, D. J. Murphy // *Front Plant Sci.* – 2017. – V. 7. – Article 2025. Режим доступа: <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.02025>.
245. Harb A. Molecular and physiological analysis of drought stress in *Arabidopsis* reveals early responses leading to acclimation in plant growth / A. Harb, A. Krishnan, M.M.R. Ambavaram, A. Pereira // *Plant Physiol.* – 2010. – V. 154. – P. 1254–1271.
246. Hart G.E. Chromosome location and evolution of isozyme structural genes in hexaploid wheat / G.E. Hart, P.J. Langstone // *Heredity.* – 1977. – V. 39. – P. 263–277.
247. Hashiguchi A. Impact of post-translational modifications of crop proteins under abiotic stress / A. Hashiguchi, S. Komatsu // *Proteomes.* – 2016. – V. 4 (4). – Article 42. Режим доступа: <https://doi.org/10.3390/proteomes4040042>.
248. Hassan N.M. Roles of dehydrin genes in wheat tolerance to drought stress / N.M. Hassan, Z.M. El-Bastawisy, A.K. El-Sayed, H.T. Ebeed, M.M. Nemat Alla // *J Adv Res.* – 2015. – V. 6. – P. 179–188.
249. Hause B. Expression of cucumber lipid body lipoxygenase in transgenic tobacco / B. Hause, H. Weichert, M. Hohne, H. Kindl, I. Feussner // *Planta.* – 2000. – V. 210. – P. 708–714.
250. Hause B. Enzymes of jasmonate biosynthesis occur in tomato sieve elements / B. Hause, G. Hause, C. Kutter, O. Miersch, C. Wasternack // *Plant Cell Physiol.* – 2003. – V. 44 (6). – P. 643–648.
251. Hayward S. Lipoxygenases: from isolation to application / S. Hayward, T. Cilliers, P. Swart // *Compr Rev Food Sci Food Saf.* – 2017. – V. 16. – P. 199–211.
252. He X.Y. Allelic variants of phytoene synthase 1 (*Psy1*) genes in Chinese and CIMMYT wheat cultivars and development of functional markers for flour colour / X.Y. He, Z.H. He, W. Ma, R. Appels, X.C. Xia // *Mol. Breed.* – 2009. – V. 23. – P. 553–563.
253. He Y. Specific missense alleles of the *Arabidopsis* jasmonic acid co-receptor COI1 regulate innate immune receptor accumulation and function / Y. He, E.-H. Chung, D.A. Hubert, P. Tornero, J.L. Dangl // *PLoS Genetics.* – 2012. – V. 8. – Article e1003018. Режим доступа: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pgen.1003018>.
254. He M. Abiotic Stresses: general defenses of land plants and chances for engineering multistress tolerance / M. He, C.-Q. He, N.-Z. Ding // *Front Plant Sci.* – 2018. – V. 9. — Article 1771. Режим доступа: <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01771>.
255. Herde O. Stomatal responses to jasmonic acid, linolenic acid and abscisic acid in wild-type and ABA-deficient tomato plants / O. Herde, H. Pena-Cortes, L. Willmitzer, J. Eisahn // *Plant Cell Environ.* – 1997. – V. 20. – P. 136–141.
256. Hessler T.G. Association of a lipoxygenase locus, *Lpx-B1*, with variation in lipoxygenase activity in durum wheat seeds / T.G. Hessler, M.J. Thomson, D. Benscher, M.M. Nachit, M.E. Sorrells // *Crop Science.* – 2002. – V. 42 (5). – P. 1695–1700.

257. Heydeck D. Improved procedure for the detection of activity of lipoxygenases on electrophoregrams / D. Heydeck, T. Schewe // *Biochim. Biophys Acta.* – 1985. – V. 44. (7–8). P. 1261–1263.
258. Hind S.R. The COP9 signalosome controls jasmonic acid synthesis and plant responses to herbivory and pathogens / S.R. Hind, S.E. Pulliam, P. Veronese, D. Shantharaj, A. Nazir, N.S. Jacobs, J.W. Stratmann // *Plant J.* – 2011. – V. 65 (3). – P. 480–491.
259. Hildebrand D.F. Two soybean genotypes lacking lipoxygenase 1 / D.F. Hildebrand, T. Hymowitz // *J Am. oil chem sos.* – 1981. – V. 58. – P. 583–586.
260. Holtman W.L. Differential expression of lipoxygenase isoenzymes in embryos of germinating barley / W.L. Holtman, G. van Duijn, J.A. Srdee, A.C. Douma // *Plant physiol.* – 1996. – V. 11(2). – P. 569–576.
261. Holtman W.L. Lipoxygenase-2 oxygenates storage lipids in embryos of germinating barley / W.L. Holtman, J.C. Vredenburg-Heistek, N.F. Schmitt, I. Feussner // *Eur J Biochem.* – 1997. – V. 248. – P. 452–458.
262. Hornung E. Conversion of cucumber linoleate 13-lipoxygenase to a 9-lipoxygenating species by site-directed mutagenesis / E. Hornung, M. Walther, H. Kühn, I. Feussner // *PNAS.* – 1999. – V. 96. – P. 4192–4197.
263. Hosney R.C. Mixograph studies. IV. The mechanism by which lipoxygenase increases mixing tolerance / R.C. Hosney, H. Rao, J. Faubion, J.S. Sighu // *Cereal Chem.* – 1980. – V. 57. – P. 163–166.
264. Hossain M.A. Involvement of endogenous abscisic acid in methyl jasmonate-induced stomatal closure in *Arabidopsis* / M.A. Hossain, S. Munemasa, M. Uraji, Y. Nakamura, I.C. Mori, Y. Murata // *Plant Physiol.* – 2011. – V. 156. – P. 430–438.
265. Hou X. DELLAs modulate jasmonate signaling via competitive binding to JAZs / X. Hou, L.Y.C. Lee, K. Xia, Y. Yan, H. Yu // *Developmental Cell.* – 2010. – V. 19. – P. 884–894.
266. Hsieh C.C. Isolation of lipoxygenase isoenzymes from flour of durum wheat endosperm / C.C. Hsieh, C.E. McDonald // *Cereal Chem.* – 1984. – V. 61 (5). – P. 392–398.
267. Huang X. Q. Advanced backcross QTL analysis for the identification of quantitative trait loci alleles from wild relatives of wheat (*Triticum aestivum* L.) / X. Q. Huang, H. Cöster, M.W. Ganai, M.S. Röder // *Theor Appl Genet.* – 2003. – V. 106. – P. 1379–1389.
268. Huang A.X. Nitric oxide, actin reorganization and vacuoles change are involved in PEG 6000-induced stomatal closure in *Vicia faba* / A.X. Huang, X.P. She, B. Cao, B. Zhang, J. Mu, S.J. Zhang // *Physiol Plant.* – 2009. – V. 136. – P. 45–56.
269. Huang Q. TaNAC29, a NAC transcription factor from wheat, enhances salt and drought tolerance in transgenic *Arabidopsis* / Q. Huang, Y. Wang, B. Li, J. Chang, M. Chen, K. Li, G. Yang, G. He // *BMC Plant Biol.* – 2015. – V. 15. – Article 268. Режим доступа: <http://dx.doi.org/10.1186/s12870-015-0644-9>.
270. Huang L.-M. *Arabidopsis* SFAR4 is a novel GDSL-type esterase involved in fatty acid degradation and glucose tolerance / L.-M. Huang, C.-P. Lai, L.-F. O. Chen, M.-T. Chan, J.-F. Shaw // *Bot Stud.* – 2015. – V. 56. – Article 33. Режим доступа: <https://doi.org/10.1186/s40529-015-0114-6>.
271. Hughes L. Climate change and Australia: trends, projections and impacts / L. Hughes // *Australian Ecology.* – 2003. – V. 28. – P. 423–443.

272. Huot B. Growth–defense tradeoffs in plants: a balancing act to optimize fitness / B. Huot, J. Yao, B.L. Montgomery, S.Y. He // *Mol Plant*. – 2014. – V. 7 (8). – P. 1267–1287.
273. Husband F. A comparison of the foaming and interfacial properties of two related lipid binding proteins from wheat in the presence of a competing surfactant / F. Husband, P.J. Wilde, D. Marion, D.C. Clark // *Food macromolecules and colloids*; eds. E. Dickinson, D. Lorient. Royal Society of Chemistry, London, 1994. – P. 285–96.
274. Hyun T.K. The Arabidopsis PLAT domain protein is critically involved in abiotic stress tolerance / T.K. Hyun., E. van der Graaff., A. Albacete., S.H. Eom, D. K. Großkinsky, H. Böhm, U. Janschek, Y. Rim, W.W. Ali, S.Y. Kim, T. Roitsch. // *PLoS ONE*. – 2014. – V. 9 (11). – Article e112946. Режим доступа: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112946>.
275. Ibrahim S.E. Comparison of QTLs for drought tolerance traits between two advanced backcross populations of spring wheat / S.E. Ibrahim, A. Schubert, K. Pillen, J. Léon // *Int J Agric. Sci.* – 2012. – V. 2. – P. 216–227.
276. Ichimura K. Various abiotic stresses rapidly activate Arabidopsis MAP kinases AtMPK4 and AtMPK6 / K. Ichimura, T. Mizoguchi, R. Yoshida, T. Yuasa, K. Shinozaki // *Plant J.* – 2000. – V. 24. – P. 655–665.
277. Inshigugo S. The DEFECTIVE IN ANTHHER DEHISCENCE gene encodes a novel phospholipase A1 catalyzing the initial step of jasmonic acid biosynthesis, which synchronizes pollen maturation, anther dehiscence, and flower opening in Arabidopsis / S. Inshigugo, A. Kawai–Oda, J. Ueda, I. Nishida, K. Okada // *Plant Cell*. – 2001. – V. 13 (10). – P. 2191–209.
278. International Wheat Genome Sequencing Consortium (IWGSC). Shifting the limits in wheat research and breeding using a fully annotated reference genome / IWGSC // *Science*. – 2018. – V. 361. – Article eaar7191. Режим доступа: <http://dx.doi.org/10.1126/science.aar7191>.
279. Isayenkov S. Suppression of allene oxide cyclase in hairy roots of *Medicago truncatula* reduces jasmonate levels and the degree of mycorrhization with *Glomus intraradices* / S. Isayenkov, C. Mrosk, I. Stenzel, D. Strack, B. Hause // *Plant Physiol.* – 2005. – V. 139. – P. 1401–1410.
280. Ivanov I. Molecular enzymology of lipoxygenases / I. Ivanov, D. Heydeck, K. Hofheinz, J. Roffeis, V.B. O’Donnell, H. Kuhn, M. Walther // *Arch Biochem Biophys.* – 2010. – V. 503. – P. 161–174.
281. Izydorczyk M.S. Arabinoxylans: technologically and nutritionally functional plant polysaccharides / M.S. Izydorczyk, C.G. Biliaderis // *Functional food carbohydrates*; eds. C.G. Biliaderis, M.S. Izydorczyk – Florida, USA: CRC Press, Taylor & Francis group, 2006. – P. 249–290.
282. Jena K.K. Molecular markers and their use in marker–assisted selection in rice / K.K. Jena, D.J. Mackill // *Crop Sci.* – 2008. – V. 48 (4). – Article 1266. Режим доступа: <https://doi.org/10.2135/cropsci2008.02.0082>.
283. Jerkovic A. Strategic distribution of protective proteins within bran layers of wheat protects the nutrient–rich endosperm / A. Jerkovic, A.M. Kriegel, J.R. Bradner, B. J. Atwell, T. H. Roberts, R.D. Willows // *Plant Physiol.* – 2010. – V. 152. – P. 1459–1470.
284. Jia J. *Aegilops tauschii* draft genome sequence reveals a gene repertoire for wheat adaptation / J. Jia, S. Zhao [...], J. Wang (International Wheat Genome Sequencing Consortium) //

- Nature. – 2013. – V. 496. – Article 91. Режим доступа: <https://doi.org/10.1038/nature12028>.
285. Jiang Y. *Arabidopsis* WRKY57 functions as anode of convergence for jasmonic acid–and auxin–mediated signaling in jasmonic acid–induced leaf senescence / Y. Jiang, G. Liang, S. Yang, D. Yu // *Plant Cell*. – 2014. – V. 26. – P. 230–245.
286. Kadam S. Genomic association for drought tolerance on the short arm of wheat chromosome 4B / S. Kadam, K. Singh, S. Shukla, S. Goel, P. Vikram, V. Pawar, K. Gaikwad, R. Khanna–Chopra, N.K. Singh // *Funct Integr Genomics*. – 2012. – V. 12. – P. 447–464.
287. Kage U. Functional molecular markers for crop improvement / U. Kage, A. Kumar, D. Dhokane, S. Karre, A.C. Kushalappa // *Crit Rev Biotechnol*. – 2016. – V. 36 (5). – P. 917–930.
288. Kato T. Appearance of new lipoxygenases in soybean cotyledons after germination and evidence for expression of major new lipoxygenase gene / T. Kato, H. Ohta, K. Tanaka, D. Shibata // *Plant Physiol*. – 1992. – V. 98. – P. 324–330.
289. Katou S. Involvement of PPS3 phosphorylated by elicitor–responsive mitogen–activated protein kinases in the regulation of plant cell death / S. Katou, H. Yoshioka, K. Kawakita, O. Rowland, J.D.G. Jones, H. Mori, N. Doke // *Plant Physiol*. – 2005b. – V. 139. – P. 1914–1926.
290. Kazan K. The interplay between light and jasmonate signaling during defence and development / K. Kazan, J.M. Manners // *J Exp Bot*. – 2011. – V. 62 (12). – 4087–4100.
291. Kazan K. JAZ repressors and the orchestration of phytohormone crosstalk / K. Kazan, J.M. Manners // *Trends in Plant Sci*. – 2012. – V. 17. – P. 22–31.
292. Kazan K. MYC2: the master in action / K. Kazan, J.M. Manners // *Mol Plant*. – 2013. – V. 6. – P. 686–703.
293. Kazan K. Diverse roles of jasmonates and ethylene in abiotic stress tolerance / K. Kazan // *Trends in Plant Sci*. – 2015. – V. 20 (4). – P. 219–229.
294. Kazan K. The multitasking MEDIATOR25 / K. Kazan // *Front Plant Sci*. – 2017. – V. 8. – Article 999. Режим доступа: <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00999>.
295. Khajuria C. Mobilization of lipids and fortification of cell wall and cuticle are important in host defense against Hessian fly / C. Khajuria, H. Wang, X. Liu, S. Wheeler, J.C. Reese, M.E. Bouhssini, R.J. Whitworth, M.–S. Chen // *BMC Genomics*. – 2013. – V. 14. – Article 423. Режим доступа: <http://www.biomedcentral.com/1471-2164/14/423>.
296. Khan M. The role of hormones in the aging of plants — a mini–review / M. Khan, W. Rozhon, B. Poppenberger // *Gerontology*. – 2014. – V. 60. – P. 49–55.
297. Khan S.–A. Revisiting the role of plant transcription factors in the battle against abiotic stress / S.–A. Khan, M.–Z. Li, S.–M. Wang, H.–J. Yin // *Int J Mol Sci*. – 2018. V. – 19. – Article 1634. Режим доступа: <https://doi.org/10.3390/ijms19061634>.
298. Khanna–Chopra R. Drought resistance in crops: Physiological and genetic basis of traits for crop productivity / R. Khanna–Chopra, K. Singh // *Stress responses in plants*; eds. B.N. Tripathi, M. Muller – Switzerland: Springer: Cham, 2015. – P. 267–292.
299. Khlestkina E.K. A new gene controlling the flowering response to photoperiod in wheat / E.K. Khlestkina, A. Giura, M.S. Röder, A. Börner // *Euphytica*. – 2009. – V. 165. – P. 579–585.

300. Kim E.H. Methyl jasmonate reduces grain yield by mediating stress signals to alter spikelet development in rice / E.H. Kim, Y.S. Kim, S.-H. Park, Y.J. Koo, Y.D. Choi, Y.-Y. Chung, I.-J. Lee, J.-K. Kim // *Plant Physiol.* – 2009. – V. 149. – P. 1751–1760.
301. Kim K.H. Puroindolines are associated with decreased polar lipid breakdown during wheat seed development / K.H. Kim, L. Feiz, J.M. Martin, M.J. Giroux // *J Cereal Sci.* – 2012b. – V. 52. – P. 142–146.
302. Kim J.H. AtMyb7, a subgroup 4 R2R3 Myb, negatively regulates ABA-induced inhibition of seed germination by blocking the expression of the bZIP transcription factor ABI5 / J.H. Kim, W.Y. Hyun, H.N. Nguyen, C.Y. Jeong, L. Xiong, S.-W. Hong, H. Lee // *Plant, Cell and Environ.* – 2015. – V. 38. – P. 559–571.
303. Kirigwi F.M. Markers associated with a QTL for grain yield in wheat under drought / F.M. Kirigwi, M. Van Ginkel, G. Brown-Guedira, B.S. Gill, G.M. Poulsen, A.K. Fritz // *Mol Breed.* – 2007. – V. 20. – P. 401–413.
304. Kohli A. The phytohormone crosstalk paradigm takes center stage in understanding how plants respond to abiotic stresses / A. Kohli, N. Sreenivasulu, P. Lakshmanan, P.P. Kumar // *Plant Cell Rep.* – 2013. – V. 32. – P. 945–957.
305. Koizumi M. Structure and expression of two genes that encode distinct drought-inducible cysteine proteinases in *Arabidopsis thaliana* / M. Koizumi, K. Yamaguchi–Shinozaki, H. Tsuji, K. Shinozaki // *Gene.* – 1993. – V. 129 (2). – P. 175–182.
306. Kolomiets M.V. Lipoxygenase is involved in control of potato tuber development / M.V. Kolomiets, D.J. Hannapel, H. Chen, M. Tymeson, R.J. Gladon // *Plant Cell.* – 2001. – V. 13. – P. 613–626.
307. Koshio K. Induction of browning of male flowers of *Cryptomeria japonica* by treatment with fatty acids: mechanism and the role of trans-2-hexenal / K. Koshio, H. Takahashi, Y. Ota // *Plant Cell Physiol.* – 1995. – V. 36 (8). – P. 1511–1517.
308. Krishnamoorthy P. Regulatory roles of phosphoinositides in membrane trafficking and their potential impact on cell-wall synthesis and re-modelling / P. Krishnamoorthy, C. Sanchez-Rodriguez, I. Heilmann, S. Persson // *Ann Bot.* – V. 114 (6). – P. 1049–1057.
309. Kühn H. The diversity of the lipoxygenase family – Many sequence data but little information on biological significance / H. Kühn, B.J. Thiele // *FEBS Lett.* – 1999. – V. 449. – P. 7–11.
310. Kilaru A. Lipoxygenase-mediated Oxidation of Polyunsaturated *N*-Acylethanolamines in *Arabidopsis* / A. Kilaru, C. Herrfurth, J. Keereetawee, E. Hornung, B.J. Venables, I. Feussner, K.D. Chapman // *J Biol Chem.* – 2011. – V. 286 (17). – P. 15205–15214.
311. Kulich I. Arabidopsis exocyst subcomplex containing subunit EXO70B1 is involved in autophagy-related transport to the vacuole / I. Kulich, T. Pecenkova, J. Sekeres, O. Smetana, M. Fendrych, I. Foissner, M. Höftberger, V. Zarsky // *Traffic.* – 2013. – V. 14. – P. 1155–1165.
312. Kulwal P. QTL mapping for growth and leaf characters in bread wheat / P. Kulwal, J. Roy, H.S. Balyan, P. Gupta // *Plant Sci.* – 2003. – V. 164 (2). – P. 267–277.
313. Kumar S. Genomic characterization of drought tolerance related traits in spring wheat / S. Kumar, S.K. Sehgal, U. Kumar, P.V.V. Prasad, A.K. Joshi, B.S. Gill // *Euphytica.* – 2012. – V. 186. – P. 265–276.

314. Kunert A. AB–QTL analysis in winter wheat: I. Synthetic hexaploid wheat (*T. turgidum* ssp. *dicoccoides* × *T. tauschii*) as a source of favourable alleles for milling and baking quality traits / A. Kunert, A.A. Naz, O. Dedek, K. Pillen, J. Leon // *Theor Appl Gen.* – 2007. – V. 115. – P. 683–695.
315. Lackman P. Jasmonate signaling involves the abscisic acid receptor PYL4 to regulate metabolic reprogramming in Arabidopsis and tobacco / P. Lackman, M. González–Guzmán, S. Tilleman, I. Carqueijeiro, A.C. Pétez, T. Moses, M. Seo, Y. Kanno, S.T. Hakkinen, M.C. Van Montagu, J.M. Thevelein, H. Maaheimo, K.M. Oksman–Caldentey, P.L. Rodriguez, H. Rischer, A. Goossens // *PNAS.* – 2011 – V. 108 (14). – P. 5891–5896.
316. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 / U.K. Laemmli // *Nature.* – 1970. – V. 227. – P. 680–685.
317. Lage J. Field evaluation of emmer wheat–derived synthetic hexaploid wheat for resistance to Russian wheat aphid (*Homoptera: Aphididae*) / J. Lage, B. Skovmand, S.B. Andersen // *J Econom Entomol.* – 2004. – V. 97. – P. 1065–1070.
318. Laha D. VIH2 regulates the synthesis of inositol pyrophosphate InsP8 and jasmonate–dependent defenses in Arabidopsis / D. Laha, P. Johnen, C. Azevedo, M. Dynowski, M. Weiß, S. Capolicchio, H. Mao, T. Iven, M. Steenbergen, M. Freyer, P. Gaugler, M. K.F. de Campos, N. Zheng, I. Feussner, H. J. Jessen, S. C.M. Van Wees, A. Saiardi, G. Schaaf // *Plant Cell.* – 2015. – V. 27. – P. 1082–1097.
319. Laha D. Inositol polyphosphate binding specificity of the jasmonate receptor complex / D. Laha, N. Parvin, M. Dynowski, P. Johnen, H. Mao, S.T. Bitters, N. Zheng, G. Schaaf // *Plant Physiol.* – 2016. – V. 171. – P. 2364–2370.
320. Lai C.S. Production of whole wheat bread with good loaf volume / C.S. Lai, A.B. Davis, R.C. Hoseney // *Cereal Chem.* – 1989. – V. 66 (2). – P. 224–227.
321. Landgraf R. Repeated leaf wounding alters the colonization of *Medicago truncatula* roots by beneficial and pathogenic microorganisms / R. Landgraf, S. Schaarschmidt, B. Hause // *Plant Cell Environ.* – 2012. – V. 35. – P. 1344–1357.
322. Landjeva S. Molecular mapping of genomic regions associated with wheat seedling growth under osmotic stress / S. Landjeva, K. Neumann, U. Lohwasser, A. Börner // *Biol Plant.* – 2008 – V. 52 (2). – P. 259–266.
323. Landjeva S. Genetic mapping within the wheat D genome reveals QTL for germination, seed vigour and longevity, and early seedling growth / S. Landjeva, U. Lohwasser, A. Börner // *Euphytica.* – 2010. – V. 17. P. 129–143.
324. Larrieu A. Q&A: How does jasmonate signaling enable plants to adapt and survive ? / A. Larrieu, T. Vernoux // *BMC Biology.* – 2016. – V. 14 (1). – Article 79. Режим доступа: <https://doi.org/10.1186/s12915-016-0308-8>.
325. Law C.N. Inter–varietal chromosome substitution lines in wheat – revisited / C.N. Law, A.J. Worland // *Euphytica.* – 1996. – V. 89 (1). – P. 1–10.
326. Lebold K. M. Interactions between alpha–tocopherol, polyunsaturated fatty acids, and lipoxygenases during embryogenesis / K. M. Lebold, M. G. Traber // *Free Radic Biol Med.* – 2014. – V. 66. – Article 13–9. Режим доступа: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.07.039>.

327. Lee Y. Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate is important for stomatal opening / Y. Lee, Y.W. Kim, B.W. Jeon, K.Y. Park, S.J. Suh, J. Seo, J.M. Kwak, E. Martinoia, I. Hwang, Y. Lee // *Plant J.* – 2007. – V. 52 (5). – P. 803–816.
328. Lee J. Analysis of transcription factor HY5 genomic binding sites revealed its hierarchical role in light regulation of development / J. Lee, K. He, V. Stolc, H. Lee, P. Figueroa, Y. Gao, W. Tongprasit, H. Zhao, I. Lee, X.W. Deng // *Plant Cell.* – 2007. – V. 19 (3). – P. 731–749.
329. Lehmann J. Accumulation of jasmonate, abscisic acid, specific transcripts and proteins in osmotically stressed barley leaf segments / J. Lehmann, R. Atzorn, C. Brückner, S. Reinbothe, J. Leopold, C. Wasternack, B. Parthier // *Planta.* – 1995. – V. 197. – P. 156–162.
330. Leonova I.N. Comparative molecular and genetic analysis of *Triticum aestivum* × *Triticum timopheevii* hybrid lines resistant to leaf rust / I.N. Leonova, N.P. Kalinina, E.B. Budashkina, M.S. Röder, E.A. Salina // *EWAC Newsletter. Proc. 11th EWAC Conf.* – Novosibirsk, Russia, 2001. – P. 140–143.
331. Leonova S. Mobilization of lipid reserves during germination of oat (*Avena sativa* L.), a cereal rich in endosperm oil / S. Leonova, A. Grimberg, S. Marttila, S. Stymne, A. S. Carlsson // *J Exp Bot.* – 2010. – V. 61 (11). – P. 3089–3099.
332. Lesage V.S. Proteomes of hard and soft near-isogenic wheat lines reveal that kernel hardness is related to the amplification of a stress response during endosperm development / V.S. Lesage, M. Merlino, C. Chambon, B. Bouchet, D. Marion, G. Branlard // *J Exp Bot.* – 2012. V. 63 (2). – P. 1001–1011.
333. Li L. Effects of plant growth regulators on the antioxidant system in seedlings of two maize cultivars subjected to water stress / L. Li, J. Van Staden, A.K. Jager // *Plant Growth Regul.* – 1998. – V. 25. – P. 81–87.
334. Li W.L. Genomic mapping of resistance genes in wheat / W.L. Li, J.D. Faris, J.M. Chittoor, J.E. Leach, S.H. Hulbert, D.J. Liu, P.D. Chen, B.S. Gill // *Theor Appl Genet.* – 1999. – V. 98. – P. 226–233.
335. Li A. Assessment of lipid transfer protein (LTP1) gene in wheat powdery mildew resistance / A. Li, C. Meng, R. Zhour, Z. Ma, J. Jia // *Agric Sci in China.* – 2006. – V. 5 (4). – P. 101–105.
336. Li Y. The influence of drought and heat stress on the expression of end-use quality parameters of common wheat / Y. Li, Y. Wu, N. Hernandez-Espinosa, R. J. Peña // *J Cereal Sci.* – 2013. – V. 57(1). – P. 73–78.
337. Li Q. Adjustments of lipid pathways in plant adaptation to temperature stress / Q. Li, W. Shen, Q. Zheng, D. B. Fowler, J. Zou // *Plant Signal Behav.* – 2016. – V. 11 (1). – Article e105846. Режим доступа: <https://doi.org/10.1080/15592324.2015.1058461>.
338. Li J. *Hormone Metabolism and Signaling in Plants* / J. Li, C. Li, S.M. Smith // Academic Press: London, UK, 2017. – 616 p.
339. Liavonchanka A. Lipoxygenases: occurrence, functions and catalysis / A. Liavonchanka, I. Feussner // *J. Plant Physiol.* – 2006. – V. 163 (3). – P. 348–357.
340. Li-Beisson Y. *The Arabidopsis book, acyl-lipid metabolism.* / Y. Li-Beisson, B. Shorrosh, F. Beisson, M.X. Andersson, V. Arondel, P. D. Bates, S. Baud, D. Bird, A. DeBono, T.P. Durrett, R.B. Franke, I.A. Graham, K. Katayama, A.A. Kelly, T. Larson, J.E. Markham, M. Miquel, I. Molina, I. Nishida, O. Rowland, L. Samuels, K. M. Schmid, H. Wada, R. Welti,

- C. Xu, R. Zallot, J. Ohlrogge // The American Society of Plant Biologists. – 2013. – Article e0161. – P. 1–70. Режим доступа: <https://doi.org/10.1199/tab.0161>.
341. Lillemo M. A leucine to proline mutation in puroindoline b is frequently present in hard wheats from northern Europe / M. Lillemo, C.F. Morris // *Theor Appl Genet.* – 2000. – V. 100. – P. 1100–1107.
342. Liu G. Alterations of mitochondrial protein assembly and jasmonic acid biosynthesis pathway in Honglian (HL)-type cytoplasmic male sterility rice / G. Liu, H. Tian, Y.-Q. Huang, J. Hu, Y.X. Ji, S.Q. Li, Y.Q. Feng, L. Guo, Y.G. Zhu // *J Biol Chem.* – 2012. – V. 287. – P. 40051–40060.
343. Liu Y. Functional markers in wheat: current status and future prospects / Y. Liu, Z. He, R. Appels, X. Xia // *Theor Appl Genet.* – 2012. – V. 125. – P. 1–10.
344. Liu Y. Expression patterns of ABA and GA metabolism genes and hormone levels during rice seed development and imbibition: a comparison of dormant and non-dormant rice cultivars / Y. Liu, J. Fang, F. Xu, J. Chu, C. Yan, M.R. Schläppi, Y. Wang, C. Chu // *J Genet Genomics.* – 2014. – V. 41. – P. 327–338.
345. Liu S. Molecular markers linked to important genes in hard winter wheat / S. Liu, J.C. Rudd, G. Bai, S.D. Haley, A.M.H. Ibrahim, Q. Xue, D.B. Hays, R.A. Graybosch, R.N. Devkota, P.S. Amand // *Crop Sci.* – 2014. – V. 54. – P. 1304–1321.
346. Liu Y. Arabidopsis *AtbHLH112* regulates the expression of genes involved in abiotic stress tolerance by binding to their E-box and GCG-box motifs / Y. Liu, X. Ji, X. Nie, M. Qu, L. Zheng, Z. Tan, H. Zhao, L. Huo, S. Liu, B. Zhang, Y. Wang // *New Phytologist.* – 2015. – V. 207. – P. 692–709.
347. Liu P.-L. Origin and diversification of leucine-rich repeat receptor-like protein kinase (LRR-RLK) genes in plants / P.-L. Liu, L. Du, Y. Huang, S.-M. Gao, M. Yu // *BMC Evolutionary Biology.* – 2017. – V. 17 – Article 47. Режим доступа: <https://doi.org/10.1186/s12862-017-0891-5>.
348. Loeffler C. B1-phytoprostanes trigger plant defense and detoxification responses / C. Loeffler, S. Berger, A. Guy, T. Durand, G. Bringmann, M. Dreyer, U. von Rad, J. Durner, M.J. Mueller // *Plant Physiol.* – 2005. – V. 137. – P. 328–340.
349. Löhelaid H. Lipoygenase-allene oxide synthase pathway in octocoral thermal stress response / H. Löhelaid, T. Teder, N. Samel // *Coral Reefs.* – 2015. – V. 34 (1). – P. 143–154.
350. Lomnitski L. The interaction between β -carotene and lipoygenase in plant and animal systems / L. Lomnitski, R. Bar-Natan, D. Sklan, S. Grossman // *Biochim Biophys Acta.* – 1993. – V. 1167. – P. 331–338.
351. López-Nicolas J.M. Enzymatic oxidation of linoleic acid by lipoygenase forming inclusion complexes with cyclodextrins as starch model molecules / J.M. López-Nicolas, R. Bru, F. García-Carmona // *J Agric Food Chem.* – 1997. – V. 45. – P. 1144–1148.
352. Lorenzo O. ETHYLENE RESPONSE FACTOR1 integrates signals from ethylene and jasmonate pathways in plant defense / O. Lorenzo, R. Piqueras, J.J. Sánchez-Serrano, R. Solano // *Plant Cell.* – 2003. – V. 15. – P. 165–178.
353. Lorenzo O. Molecular players regulating the jasmonate signalling network / O. Lorenzo, R. Solano // *Curr Opin Plant Biol.* – 2005. – V. 8 (5). – P. 532–540.

354. Lough T.J. Integrative plant biology: role of phloem long-distance macromolecular trafficking / T.J. Lough, W.J. Lucas // *Annu Rev Plant Biol.* – 2006. – V. 57. – P. 203–232.
355. Lowry O.H. Protein measurement with the folin phenol reagent / O.H. Lowry, N.J. Rosebrough, A.L. Farr, R.J. Randall // *J. Biol. Chem.* – 1951. – V. 193. – P. 265–275.
356. Luna E. Next-generation systemic acquired resistance / E. Luna, T.J.A. Bruce, M.R. Roberts, V. Flors, J. Ton // *Plant Physiol.* – 2012. – V. 158. – P. 844–853.
357. Ma D.Y. Characterization of a cell wall invertase gene *TaCwi-A1* on common wheat chromosome 2A and development of functional markers / D.Y. Ma, J. Yan, Zh. He, L. Wu, X.C. Xia // *Mol. Breed.* – 2012. – V. 29. – P. 43–52.
358. Maccaferri M. Quantitative trait loci for grain yield and adaptation of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) across a wide range of water availability / M. Maccaferri, M.C. Sanguineti, S. Corneti, J.L. Ortega, M.B. Salem, J. Bort, E. DeAmbrogio, L.F. del Moral, A. Demontis, A. El-Ahmed, F. Maalouf, H. Machlab, V. Martos, M. Moragues, J. Motawaj, M. Nachit, N. Nserallah, H. Ouabbou, C. Royo, A. Slama, R. Tuberosa // *Genetics.* – 2008. – V. 178. – P. 489–511.
359. Maccarrone M. In vitro oxygenation of soybean biomembranes by lipoxygenase-2 / M. Maccarrone, P.G. van Aarle, G.A. Veldink, F.G. Vliegenhart // *Biochim Biophys Acta.* – 1994. – V. 1190 (1). – P. 164–169.
360. Maccarrone M. Modulation of soybean lipoxygenase expression and membrane oxidation by water deficit / M. Maccarrone, G.A. Veldink, A. Finazzi Aghro, F.G. Vliegenhart // *FEBS Lett.* – 1995. – V. 371. – P. 223–226.
361. MacRitchie F. The role of lipids in baking / F. MacRitchie // *Lipids in Cereal Technology*; eds. P.J. Barnes – New York: Academic Press, 1983. – P. 165–88.
362. Maeo K. An AP2-type transcription factor, WRINKLED1, of *Arabidopsis thaliana* binds to the AW-box sequence conserved among proximal upstream regions of genes involved in fatty acid synthesis / K. Maeo, T. Tokuda, A. Ayame, N. Mitsui, T. Kawai, H. Tsukagoshi, S. Ishiguro, K. Nakamura // *Plant J.* – 2009. – V. 60. – P. 476–487.
363. Mahmood M. Effect of methyl jasmonate treatments on alleviation of polyethylene glycol-mediated water stress in banana (*Musa acuminata* cv. 'Berangan', AAA) shoot tip cultures / M. Mahmood, S.S. Bidabadi, C. Ghobadi, D.J. Gray // *Plant Growth Regul.* – 2012. – V. 68 (2). – P. 161–169.
364. Mandaokar A. Transcriptional regulators of stamen development in *Arabidopsis* identified by transcriptional profiling / A. Mandaokar, B. Thines, B. Shin, B.M. Lange, G. Choi, Y.J. Koo, Y.J. Yoo, Y.D. Choi, G. Choi, J. Browse // *Plant J.* – 2006. – V. 46. – P. 984–1008.
365. Manna F. Differential expression of lipoxygenase genes among durum wheat cultivars / F. Manna, G.M. Borelli, D.R. Massardo, K. Wolf, P. Alifano, L.D. Giudice, N. Di Fonzo // *Cereal Res Commun.* – 1998. – V. 26 (1). – P. 23–30.
366. Mansur L.M. Effects of 'Cheyenne' chromosomes on milling and baking quality in 'Chinese Spring' wheat in relation to glutenin and gliadin storage proteins / L.M. Mansur, C.O. Qualset, D.D. Kasarda, R. Morris // *Crop Sci.* – 1990. – V. 30 (3). – P. 593–602.
367. Mao X. Novel NAC transcription factor TaNAC67 confers enhanced multi-abiotic stress tolerances in *Arabidopsis* / X. Mao, S. Chen, A. Li, C. Zhai, R. Jing // *PLoS One.* – 2014. – V. 9. – Article e84359. Режим доступа: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084359>.

368. Maphosa L. Genetic control of grain yield and grain physical characteristics in a bread wheat population grown under a range of environmental conditions / L. Maphosa, P. Langridge, H. Taylor, B. Parent, L.C. Emebiri, H. Kuchel, M.P. Reynolds, K.J. Chalmers, A. Okada, J. Edwards, D.E. Mather // *Theor Appl Genet.* – 2014. – V. 127. – P. 1607–1624.
369. Marion D. Functionality of lipids and lipid–protein interactions in cereal–derived food products / D. Marion, L. Dubreil, J. P. Douliez // *Oleagineux Corps Gras Lipides.* – 2003. – V. 10. – P. 47–56.
370. Maruyama K. Identification of cold–inducible downstream genes of the Arabidopsis DREB1A/CBF3 transcriptional factor using two microarray systems / K. Maruyama, Y. Sakuma, M. Kasuga, Y. Ito, M. Seki, H. Goda, Y. Shimada, S. Yoshida, K. Shinozaki, K. Yamaguchi–Shinozaki // *Plant J.* – 2004. – V. 38. – P. 982–993.
371. Mayer K.M. A Structural model of the plant acyl–acyl carrier protein thioesterase FatB comprises two helix/4–stranded sheet domains, the N–terminal domain containing residues that affect specificity and the C–terminal domain containing catalytic residues / K. M. Mayer, J. Shanklin // *J Biol Chem.* – 2005. – V. 280 (5). – P. 3621–3627.
372. Maystrenko O.I. The development of 1A, 6D double substitution line Diamant 2/Novosibirskaya 67: the final stage / O.I. Maystrenko, T.A. Pshenichnikova, O.M. Popova // *EWAC Newsletter: Proc. 10th EWAC Meeting.* – Viterbo (Italy), 1998. P. 123–127.
373. McCann T.H. Protein–lipid interactions in gluten elucidated using acetic acid fractionation / T.H. McCann, D.M. Small, I.L. Batey, C.W. Wrigley, L. Day // *Food Chem.* – 2009. – V. 115. – P. 105–12.
374. McCartney C.A. QTL analysis of quality traits in the spring wheat cross RL4452 × AC Domain / C.A. McCartney, D.J. Somers, O. Lukow, N. Ames, J. Noll, S. Cloutier, D.G. Humphreys, B.D. McCallum // *Plant Breed.* – 2006. – V. 125. – P. 565–575.
375. McDonald C.E. Lipoxygenase and lutein bleaching activity of durum wheat semolina / C.E. McDonald // *Cereal Chem.* – 1979. – V. 50. – P. 292–302.
376. McIntosh R.A. Catalogue of gene symbols for wheat / R.A. McIntosh, Y. Yamazaki, J. Dubcovsky, J. Rogers, C. Morris, R. Appels, X.C. Xia // *The 12th Intern. Wheat Genet. Symp.* – Yokohama, Japan, 2013. – P. 395.
377. McIntyre C.L. Molecular detection of genomic regions associated with grain yield, yield components in an elite bread wheat cross evaluated under irrigated, rainfed conditions / C.L. McIntyre, K.L. Mathews, A. Rattey, J. Drenth, M. Ghaderi, M. Reynolds, S.C. Chapman, R. Shorter // *Theor Appl Genet.* – 2010. – V. 120. – P. 527–541.
378. Meldau S. Defence on demand: mechanisms behind optimal defence patterns / S. Meldau, M. Erb, I.T. Baldwin // *Annals of Botany.* – 2012. – V. 110. – P. 1503–1514.
379. Memelink J. Regulation of gene expression by jasmonate hormones / J. Memelink // *Phytochemistry.* – 2009. – V. 70. – P. 1560–1570.
380. Méndez–Bravo A. Alkamides activate jasmonic acid biosynthesis and signaling pathways and confer resistance to *Botrytis cinerea* in *Arabidopsis thaliana* / A. Méndez–Bravo, C. Calderón–Vázquez, E. Ibarra–Laclette, J. Raya–González, E. Ramírez–Chávez, J. Molina–Torres, A. A. Guevara–García, J. López–Bucio, L. Herrera–Estrella // *PLoS ONE.* – 2011. – V. 6. – Article e27251. Режим доступа: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0027251>.
381. Meyer D. Degradation of lipoxygenase–derived oxylipins by glyoxysomes from sunflower and cucumber cotyledons / D. Meyer, C. Herrfurth, F. Brodhun, I. Feussner // *BMC Plant*

- Biol. – 2013. – V. 13. – Article 177. Режим доступа: <https://doi.org/10.1186/1471-2229-13-177>.
382. Miao Y. The antagonist function of Arabidopsis WRKY53 and ESR/ESP in leaf senescence is modulated by the jasmonic and salicylic acid equilibrium / Y. Miao, U. Zentgraf // *Plant Cell*. – 2007. – V. 19. – P. 819–830.
383. Miao Y. Expression, purification and antimicrobial activity of puroindoline A protein and its mutants / Y. Miao, L. Chen, C. Wang, Y. Wang, Q. Zheng, C. Goa, G. Yang, G. He // *Amino Acids*. – 2012. – V. 43. – P. 1689–1696.
384. Miedaner T. Marker-assisted selection for disease resistance in wheat and barley breeding / T. Miedaner, V. Korzun // *Phytopathology*. – 2012. – V. 102 (6). – P. 560–566.
385. Minoda, Y. Thiol–disulfide transhydrogenase from bakers yeast and a new method for the direct assay of an enzyme–catalyzed thiol–disulfide interchange activity / Y. Minoda, R. Kurane, K. Yanada // *Agric Biol Chem*. – 1973. – V. 37. – P. 2511–2516.
386. Mir R.R. Integrated genomics, physiology and breeding approaches for improving drought tolerance in crops / R.R. Mir, M. Zaman–Allah, N. Sreenivasulu, R. Trethowan, R.K. Varshney // *Theor Appl Gen*. – 2012. – V. 125. – P. 625–645.
387. Mirabella R. The Arabidopsis her1 mutant implicates GABA in E–2–hexenal responsiveness / R. Mirabella, H. Rauwerda, E.A. Struys, C. Jakobs, C. Triantaphylides, M.A. Haring, R.C. Schuurink // *Plant J*. – 2008. – V. 53. – P. 197–213.
388. Mishra R.K. Function of photosynthetic apparatus of intact wheat leaves under high light and heat stress and its relationship with peroxidation of thylakoid lipids / R.K. Mishra, G. S. Singhal // *Plant Physiol*. – 1992. – V. 98. – P. 1–6.
389. Mittler R. The roles of ROS and ABA in systemic acquired acclimation / R. Mittler, E. Blumwald // *Plant Cell*. – 2015. – V. 27. – P. 64–70.
390. Miura K. Regulation of water, salinity, and cold stress responses by salicylic acid / K. Miura, Y. Tada // *Front Plant Sci*. – 2014. – V. 5. – Article 4. Режим доступа: <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00004>.
391. Mosblech A. Oxylipins: Structurally diverse metabolites from fatty acid oxidation / A. Mosblech, I. Feussner, I. Heilmann // *Plant Physiol Biochem*. – 2009. – V. 47. – P. 511–517.
392. Moon J. The ubiquitin–proteasome pathway and plant development / J. Moon, G. Parry, M. Estelle // *Plant Cell*. – 2004. – V. 16. – P. 3181–3195.
393. Moore J.P. Exogenous jasmonic acid mimics herbivore-induced systemic increase in cell wall bound peroxidase activity and reduction in leaf expansion / J.P. Moore, N.D. Paul, J.B. Whittaker, J.E. Taylor // *Funct Ecol*. – 2003. – V. 17 (4). – P. 549–554.
394. Morimoto K. BPM–CUL3 E3 ligase modulates thermotolerance by facilitating negative regulatory domain–mediated degradation of DREB2A in Arabidopsis. K. Morimoto, N. Ohama, S. Kidokoro, J. Mizoi, F. Takahashi, D. Todaka, J. Mogami, H. Sato, F. Qin, J.–S. Kim, Y. Fukao, M. Fujiwara, K. Shinozaki, K. Yamaguchi–Shinozaki // *PNAS*. – 2017. — V. 11 (40) — Article 201704189. Режим доступа: www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1704189114.
395. Morris F.C. Puroindolines: the molecular genetic basis of wheat grain hardness / F.C. Morris // *Plant Mol Biol*. – 2002. – V. 48. – P. 633–47.
396. Morris C.F. Reconciliation of D–genome puroindoline allele designations with current DNA sequence data / C.F. Morris, M. Bhave // *J Cereal Sci*. – 2008. – V. 48. – P. 277–87.

397. Morris C.F. The distal portion of the short arm of wheat (*Triticum aestivum* L.) chromosome 5D controls endosperm vitreosity and grain hardness / C.F. Morris, B.S. Beecher // *Theor Appl Genet.* – 2012. – V. 125. – P. 247–254.
398. Morrison W.R. The effect of group 5 chromosomes on the free polar lipids and breadmaking quality of wheat / W.R. Morrison, C.N. Law, L.J. Wylie, A.M. Coventry, J. Seekings // *J Cereal Sci.* – 1989. – V. 9. – P. 41 – 51.
399. Mortier V. Never too many? How legumes control nodule numbers / V. Mortier, M. Holsters, S. Goormachtig // *Plant Cell Environ.* – 2012. – V. 35. – P. 245–258.
400. Mueller S. General detoxification and stress responses are mediated by oxidized lipids through TGA transcription factors in *Arabidopsis* / S. Mueller, B. Hilbert, K. Dueckershoff, T. Roitsch, M. Krischke, M.J. Mueller, S. Berger // *Plant Cell.* – 2008. – V. 20. – P. 768–785.
401. Mueller M. J. Reactive electrophilic oxylipins: Pattern recognition and signaling / M. J. Mueller, S. Berger // *Phytochemistry.* – 2009. – V. 70. – P. 1511–1521.
402. Mujeeb-Kazi A. Wheat improvement facilitated by novel genetic diversity and in vitro technology / A. Mujeeb-Kazi // *Plant Tissue Cult.* – 2003. – V. 13 (2). – P. 179–210.
403. Munemasa S. The coronatine-insensitive 1 mutation reveals the hormonal signaling interaction between abscisic acid and methyl jasmonate in *Arabidopsis* guard cells. Specific impairment of ion channel activation and second messenger production. / S. Munemasa, K. Oda, M. Watanabe-Sugimoto, Y. Nakamura, Y. Shimoishi, Y. Murata // *Plant Physiol.* – 2007. – V. 143. – P. 1398–1407.
404. Mur L.A.J. The outcomes of concentration-specific interactions between salicylate and jasmonate signaling include synergy, antagonism, and oxidative stress leading to cell death / L.A.J. Mur, P. Kenton, R. Atzorn, O. Miersch, C. Wasternack // *Plant Physiol.* – 2006. – V. 140. – P. 249–262.
405. Murakami Y. Trienoic fatty acids and plant tolerance of high temperature / Y. Murakami, M. Tsuyama, Y. Kobayashi, H. Kodama, K. Iba // *Science.* – 2000. – V. 287. – P. 476–479.
406. Murray J.A.H. Systems analysis of shoot apical meristem growth and development: Integrating hormonal and mechanical signaling / J.A.H. Murray, A. Jones, C. Godin, J. Traas // *Plant Cell.* – 2012. – V. 10. – P. 3907–3919.
407. Nachit M.M. Molecular linkage map for an intraspecific recombinant inbred population of durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. *durum*) / M.M. Nachit, I. Elouafi, M.A. Pagnotta, A.E. Salen, E. Iacono, M. Labhilili, A. Asbati, M. Azrak, H. Hazzam, D. Bensher, M. Khairallah, J.-M. Ribaut, O.A. Tanzarella, E. Porceddu, M.E. Sorrells // *Theor. Appl. Genet.* – 2001. – V. 102. – P. 177–186.
408. Naeem H. A. Developmental and environmental effects on the assembly of glutenin polymers and the impact on grain quality of wheat / H. A. Naeem, D. Paulon, S. Irmak, F. MacRitchie // *J Cereal Sci.* – 2012. – V. 56 (1). – P. 51–57.
409. Nafie E. Jasmonic acid elicits oxidative defense and detoxification systems in *Cucumis melo* L. cells / E. Nafie, T. Hathout, A.S.A. Mokadem // *Braz J Plant Physiol.* – 2011. – V. 23. – P. 161–174.
410. Nakamura T. Rapid classification of partial waxy wheats using PCR-based markers / T. Nakamura, P. Vrinten, M. Saito, M. Konda // *Genome.* – 2002. – V. 45. – P. 1150–1156.

411. Nakashima K. Three Arabidopsis SnRK2 protein kinases, SRK2D/SnRK2.2, SRK2E/SnRK2.6/OST1 and SRK2I/SnRK2.3, involved in ABA signaling are essential for the control of seed development and dormancy / K. Nakashima, Y. Fujita, N. Kanamori, T. Katagiri, T. Umezawa, S. Kidokoro, K. Maruama, T. Yoshida, K. Ishiyama, M. Kobayashi, K. Shinazaki, K. Yamaguchi–Shinazaki // *Plant Cell Physiol.* – 2009a – V. 50. – P. 1345–1363.
412. Nakashima K. Comparative functional analysis of six drought–responsive promoters in transgenic rice / K. Nakashima, A. Jan, D. Todaka, K. Maruyama, S. Goto, K. Shinozaki, K. Yamaguchi–Shinazaki // *Planta.* – 2014. – V. 239. – P. 47–60.
413. Narvel, J.M. Agronomic and seed traits of soybean lines lacking seed lipoxygenase / J.M. Narvel, W.R. Fehr, G.A. Welke // *Crop Sci.* – 1998. – V. 38. – P. 926–928.
414. Nasu S. Search for and analysis of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in rice (*Oryza sativa*, *Oryza rufipogon*) and establishment of SNP markers / S. Nasu, J. Suzuki, R. Ohta, K. Hasegawa, R. Yui, N. Kitazawa, L. Monna, Y. Minobe // *DNA Res.* – 2009. – V. 9. – P. 163–171.
415. Nelles E.M. Improvement of brown bread quality by prehydration treatment and cultivar selection of bran / E.M. Nelles, P.G. Randall, J.R.N. Taylor // *Cereal Chem.* – 1998. – V. 75 (4). – P. 536–540.
416. Nelson J.C. Molecular mapping of wheat: major genes and rearrangements in homoeologous groups 4, 5, and 7 / J.C. Nelson, M.E. Sorrells, A.E. Van Deynse, Y.H. Lu, M. Atkinson, M. Bernard, P. Leroy, J.D. Faris, J.A. Anderson // *Genetics.* – 1995. – V. 141. – P. 721–731.
417. Nelson J.C. QGENE: software for mapping – based genomic analysis and breeding / J.C. Nelson // *Mol. Breed.* – 1997. – V. 3. – P. 239–245.
418. Nelson J.C. Quantitative trait locus analysis of wheat quality traits / J.C. Nelson, C. Andreescu, F. Breseghello, P.L. Finney, D.G. Gualberto, C.J. Bergman, R.J. Pena, M.R. Perretant, P. Leroy, C.O. Qualset, M.E. Sorrells // *Euphytica.* – 2006. – V. 149. – P. 145 – 159.
419. Nemhauser J.L. Different plant hormones regulate similar processes through largely nonoverlapping transcriptional responses / J.L. Nemhauser, F. Hong, J. Chory // *Cell.* – 2006. – V. 126. – P. 467–475.
420. Nevo E. Evolution of wild emmer and wheat improvement: population genetics, genetic resources, and genome organization of wheat's progenitor *Triticum dicoccoides* / E. Nevo, A.B. Korol, A. Beiles, F. Tzion // Berlin Heidelberg: Springer–Verlag, 2002. – 322 p.
421. Nezhadahmadi A. Drought tolerance in wheat / A. Nezhadahmadi, Z.H. Prodhan, G. Faruq // *Scientific World J.* – V. 2013. – Article ID 610721. Режим доступа: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/610721>.
422. Nezhad K.Z. QTL analysis for thousand–grain weight under terminal drought stress in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) / K.Z. Nezhad, W. Weber, M. Röder, S. Sharma, U. Lohwasser, R. Meyer, B. Saal, A. Börner // *Euphytica.* – 2012. – V. 186. – P. 127–138.
423. Nilsson A.K. The activity of HYDROPEROXIDE LYASE 1 regulates accumulation of galactolipids containing 12–oxo–phytodienoic acid in Arabidopsis / A.K. Nilsson, P. Fahlberg, O. N. Johansson, M. Hamberg, M.X. Andersson, M. Ellerström // *J Exp Bot.* – 2016. – V. 67 (17). – P. 5133–5144.

424. Niroda N. Characterization of lipoxygenase-1 null mutants in barley / N. Niroda, T. Kaneko, H. Kuroda, H. Kaneda, M. Takashio, K. Ito, K. Takeda // *Theor Appl Genet.* – 2005. – V. 111. – P. 1580–1584.
425. Niu C.F. Wheat *WRKY* genes *TaWRKY2* and *TaWRKY19* regulate abiotic stress tolerance in transgenic *Arabidopsis* plants / C.F. Niu, W. Wei, Q.Y. Zhou, A.G. Tian, Y.J. Hao, W.K. Zhang, B. Mai, Q. Lin, Z.B. Zhang, J.S. Zhang, S.Y. Chen // *Plant Cell Environ.* – 2012. – V. 35. – P. 1156–1170.
426. Novaković L. Hitting the wall—sensing and signaling pathways involved in plant cell wall remodeling in response to abiotic stress / L. Novaković, T. Guo, A. Bacic, A. Sampathkumar, K. L. Johnson // *Plants* –2018. – V. 7, – Article 89. Режим доступа: <https://doi.org/10.3390/plants7040089>.
427. Oda S. Characterisation of friabilin polypeptides / S. Oda, J.D.Schofield // *J Cereal Sci.* – 1997. – V. 26. – P. 29–36.
428. Offenbacher A. R. Hydrogen deuterium exchange of lipoxygenase uncovers a relationship between distal, solvent exposed protein motions and the thermal activation barrier for catalytic proton-coupled electron tunneling / S. Hu, E.M. Poss, M. Carr, A.D. Scouras, D.M. Prigozhin, A.T. Iavarone, A. Palla, T. Alber, J.S. Fraser, J.P. Klinman // *ACS Cent. Sci.* – 2017. – V. 3. – P. 570–579.
429. Olmego F.G. The lipids of germinating wheat / F.G. Olmego, R.L. Glass // *Anales de Investigaciones Agronomicas.* – 1969. P. 300–310.
430. Osipova S. Leaf dehydroascorbate reductase and catalase activity is associated with soil drought tolerance in bread wheat / S. Osipova, A. Permyakov, M. Permyakova, T. Pshenichnikova, A. Börner // *Acta Physiol Plant.* – 2011. – V. 33 (3). – P. 1–9.
431. Osipova S.V. The role of non-prolamine proteins and LMW redox agents in protein folding and polymerization in wheat grains and the influence in baking quality parameters / S.V. Osipova, M.D. Permyakova, A.V. Permyakov // *J Agric Food Chem.* – 2012. – V. 60 (49). – P. 12065–12073.
432. Osipova S.V. The antioxidant enzymes activity in leaves of inter-variety substitution lines of wheat (*Triticum aestivum* L.) with different tolerance to soil water deficit / S.V. Osipova, A.V. Permyakov, M.D. Permyakova, T.A. Pshenichnikova, M.A. Genaev, A. Börner // *Acta Physiologiae Plantarum.* – 2013. – V. 35. – P. 2455–2465.
433. Osipova S. Regions of the bread wheat D genome associated with variation in key photosynthesis traits and shoot biomass under both well watered and water deficient conditions / S.Osipova, A. Permyakov, M. Permyakova, T. Pshenichnikova, V. Verkhoturov, A. Rudikovskiy, E. Rudikovskaya, A. Shishparenok, A. Doroshkov, A. Börner // *Appl Genetics.* – 2015. – V. 56 (4). – P. 1–3.
434. Osman H. Mediation of elicitor activity on tobacco is assumed by elicitor-sterol complexes / H. Osman, S. Vauthrin, V. Mikes, M.L. Milat, F. Panabières, A. Marais, S. Brunie, B. Maume, M. Ponchet, J-P. Blein // *Mol Biol Cell.* – 2001b – V. 12 (9). – P. 2825–2834.
435. Pagnussat L. An extracellular lipid transfer protein is relocalized intracellularly during seed germination / L. Pagnussat, C. Burbach, F. Baluška, L. de la Canal // *J Exp Bot.* – 2012. – V. 63 (18). – P. 6555–6563.

436. Pandey B.B. Identification of new aquaporin genes and single nucleotide polymorphism in bread wheat / Pandey, P. Sharma, D.M. Pandey, I. Sharma, R. Chatrath // *Evol Bioinform Online*. – 2013. – V. 9. – P. 437–52.
437. Parent B. Combining field performance with controlled environment plant imaging to identify the genetic control of growth and transpiration underlying yield response to water deficit stress in wheat / B. Parent, F. Shahinnia, P. Langridge, D. Fleury // *J Exp Bot*. – 2015. – V. 66 (18). – P. 5481–5492.
438. Pareyt B. Lipids in bread making: Sources, interactions, and impact on bread quality / B. Pareyt, S.M. Finnie, J.A. Putseys, J.A. Delcour // *J Cereal Sci*. – 2011. – V. 54. – P. 266–279.
439. Parker G.D. Mapping loci associated with milling yield in wheat (*Triticum aestivum* L.) / G.D. Parker, K.J. Chalmers, A.J. Rathjen, P. Langridge // *Mol Breed*. – 1999. – V. 5. – P. 561–568.
440. Parker G.D., Langridge P. Development of a STS marker linked to a major locus controlling flour colour in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Mol Breed*. – 2000. – V. 6 (2). – P. 169–174.
441. Pauly A. Wheat (*Triticum aestivum* L. and *T. turgidum* L. ssp. *durum*) kernel hardness: I. Current view on the role of purindolines and polar lipids / A. Pauly, B. Pareyt, E. Fierens, J.A. Delcour // *Comp Rev Food Sci Food Saf*. – 2013. – V. 12. – P. 413–4216.
442. Pauwels L. Mapping methyl jasmonate-mediated transcriptional reprogramming of metabolism and cell cycle progression in cultured Arabidopsis cells / L. Pauwels, K. Morreel, E. De Witte, F. Lammertyn, M. Van Montagu, W. Boerjan, D. Inze, A. Goossens // *PNAS*. – 2008. – V. 105. – P. 1380–1385.
443. Pauwels L. Jasmonate-inducible gene: what does it mean? / L. Pauwels, D. Inzé, A. Goossens // *Trends Plant Sci*. – 2009. – V. 14. – P. 87–91.
444. Pauwels L. NINJA connects the co-repressor TOPLESS to jasmonate signalling / L. Pauwels, G.F. Barbero, J. Geerinck, S. Tilleman, W. Grunewald, A.C. Pérez, J.M. Chico, R.V. Bossche, J. Sewell, E. Gil, G. Garcia-Casado, E. Witters, D. Insé, J.A. Long, G. De Jaeger, R. Solano, A. Goossens // *Nature*. – 2010. – V. 464. – P. 788–791.
445. Pauwels L. The JAZ proteins: A crucial interface in the jasmonate signaling cascade / L. Pauwels, A. Goossens // *Plant Cell*. – 2011. – V. 23. – P. 3089–3100.
446. Payne P.I. Wheat storage proteins: their genetics and their potential for manipulation by plant breeding / P.I. Payne, L.M. Jackson, E.A. Holt, C.N. Law // *Philos. Trans. R. Soc. London, Ser B*. – 1984. – V. 304. – P. 359–371.
447. Peleg Z. Genomic dissection of drought resistance in durum wheat 9 wild emmer wheat recombinant inbred line population / Z. Peleg, T. Fahima, T. Krugman, S. Abbo, D. Yakir, A.B. Korol, Y. Saranga // *Plant Cell Environ*. – 2009. – V. 32. – P. 758–779.
448. Peng Z. Brassinosteroid enhances jasmonate-induced anthocyanin accumulation in Arabidopsis seedlings / Z. Peng, C. Han, L. Yuan, K. Zhang, H. Huang, C. Ren // *J Integr Plant Biol*. – 2011. – V. 53. – P. 632–640.
449. Penning T.M. The aldo-keto reductases (AKRs): Overview / T.M. Penning // *Chem Biol Interact*. – 2015. – V. 234. – P. 236–246.
450. Pérez-Rodríguez P. PlnTFDB: updated content and new features of the plant transcription factor database / P. Pérez-Rodríguez, D.M. Riaño-Pachón, L.G. Corrêa, S.A. Rensing, B.

- Kersten, B. Mueller–Roeber // *Nucleic Acid Res.* – 2010. – V. 38 (Database issue). – Article D822–7. Режим доступа: <http://dx.doi.org/10.1093/nar/gkp805>.
451. Perlick A.M. A survey transcripts expressed specifically in root nodules of broad bean (*Vicia faba*) / A.M. Perlick, A. Pühler // *Plant Mol Biol.* – 1993. – V. 22. – P. 957–970.
452. Pestsova E.G. Development and QTL assessment of *Triticum aestivum*–*Aegilops tauschii* introgression lines / E.G. Pestsova, A. Borner, M.S. Röder // *Theor Appl Gen.* – 2006. – V. 112. – P. 634–647.
453. Pieruschka R. Phenotyping plants: genes, phenes and machines / R. Pieruschka, H. Poorter // *Funct Plant Biol.* – 2012. – V. 39. – P. 813–820.
454. Pieterse C.M.J. Hormonal modulation of plant immunity / C.M.J. Pieterse, D. van der Does, C. Zamioudis, A. Leon–Reyes, S.C.M. van Wees // *Ann Rev Cell Develop Biol.* – 2012. – V. 28. – P. 489–521.
455. Poland J.A. Genotyping–by–sequencing for plant breeding and genetics / J.A. Poland, T.W. Rife // *Plant Genome.* – 2012. – V. 5 (3). – P. 92–102.
456. Poltronieri P. Activation of the jasmonate biosynthetic pathway in roots in drought stress / P. Poltronieri, M. Taurino, S.D. Domenico, S. Bonsegna, A. Santino // *Climate change and abiotic stress tolerance*; eds N. Tutejaand, S.S. Gill. – Weinheim: Wiley–VCH Verlag GmbH, 2013. – P. 325–342.
457. Porta H. Analisis of lipoxygenase mRNA accumulation in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) during development and under stress condition / H. Porta, P. Rueda–Benitez, F. Campos, J.M. Colmenero–Flores, J.M. Colorado, M.J. Carmona, A.A. Covarrubias, M. Rocha–Sosa // *Plant Cell Physiol.* – 1999. – V. 140. – P. 850–858.
458. Porta H. Plant lipoxygenases. Physiological and molecular features / H. Porta, M. Rocha–Sosa // *Plant Physiol.* – 2002. – V. 130. – P. 15–21.
459. Pradhan G.P. High temperature tolerance in *Aegilops* species and its potential transfer to wheat / G.P. Pradhan, P.V.V. Prasad, A.K. Fritz, M.B. Kirkham, B.S. Gill // *Crop Sci.* – 2012. – V. 52. – P. 292–304.
460. Prasad M. QTL analysis for grain protein content using SSR markers and validation studies using NILs in bread wheat / M. Prasad, N. Kumar, P.L. Kulwal, M.S. Röder, H.S. Balyan, H.S. Dhaliwal, P.K. Gupta // *Theor Appl Gen.* – 2003. – V. 106. – P. 659–667.
461. Prasanna B.M. Molecular marker–assisted breeding options for maize improvement in Asia / B.M. Prasanna, K. Pixley, M L. Warburton, C.–X. Xie // *Mol Breed.* – 2010. – V. 26 (2). – P. 339–356.
462. Proietti P. Selenium protects olive (*Olea europaea* L.) from drought stress / P. Proietti, L. Nasini, D.D. Buono, R. D' Amato, E. Tedeschini, D. Businelli // *Scientia Horticulturae.* – 2013. – V. 164. – P. 165–171.
463. Prost I. Evaluation of the antimicrobial activities of plant oxylipins supports their involvement in defense against pathogens / I. Prost, S. Dhondt, G. Rothe, J. Vicente, M.J. Rodriguez, N. Kift, F. Carbonne, G. Griffiths, M.T. Esquerre–Tugaye, S. Rosahl, C. Castresana, M. Hamberg, J. Fournier // *Plant Physiol.* – 2005. – V. 139. – P. 1902–1913.
464. Pshenichnikova T.A. Exploitation of Saratovskaya 29 (Janetzki Probat 4D*7A) substitution and derivate lines for comprehensive phenotyping and molecular mapping of quantitative trait loci (QTL) / T.A. Pshenichnikova, E.K. Khlestkina, L.V. Shchukina, A.V. Simonov, A.K. Chistyakova, E.V. Morozova, S. Landjeva, T. Karceva, A. Börner // *EWAC*

- Newsletter. Proceedings of the 15-th International EWAC Conference. – Novi Sad, Serbia, 2012. – P. 19–22.
465. Pshenichnikova T.A. Enlargement of the genetic diversity for grain quality in bread wheat through alien introgression / T.A. Pshenichnikova, A.V. Simonov, L.V. Shchukina, E.V. Morozova, A.K. Chistyakova, A. Börner // *Advances in wheat genetics: from genome to field*; eds. Y. Ogiwara, S. Takumi, H. Handa. – Yokohama, Japan, 2015. – P. 287–292.
466. Qi T. The jasmonate–ZIM–domain proteins interact with the WD–Repeat/bHLH/MYB complexes to regulate jasmonate–mediated anthocyanin accumulation and trichome initiation in *Arabidopsis thaliana* / T. Qi, S. Song, Q. Ren, D. Wu, H. Huang, Y. Chen, M. Fan, W. Peng, C. Ren, D. Xie // *The Plant Cell*. – 2011. – V. 23. – P. 1795–1814.
467. Quarrie S.A. A high density genetic map of hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) from the cross Chinese Spring x SQ1 and its use to compare QTL for grain yield across a range of environments / S.A. Quarrie, A. Steed, C. Calestani // *Theor Appl Genet*. – 2005. – V. 110. – P. 865–880.
468. Quarrie S.A. Dissecting a wheat QTL for yield present in a range of environments: from the QTL to candidate genes / S.A. Quarrie, S.P. Quarrie, R. Radosevic, D. Rancic, A. Kaminska, J.D. Barnes, M. Leverington, C. Ceoloni, D. Dodig // *J Exp Bot*. – 2006. – V. 57. – P. 2627–2637.
469. Quarrie S. A QTL for grain yield on 7AL of wheat is activated by ABA and low nutrient treatments during flag leaf ontogeny / S. Quarrie, A. Kaminska, J. Barnes, D. Dodig, A. Gennaro // *Comp Biochem Physiol Mol Integr Physiol*. – 2007. – V. 146. – Article S253. Режим доступа: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbpa.2007.01.593>.
470. Ragab A. The lipoxygenase pathway of arachidonic acid metabolism in reproductive tissues of the firebrat, *Thermobia domestica* (Thysanura) / A. Ragab, J. Durand, C. Bitsch, H. Chap, M. Rigaud // *Insect Biochemistry*. – 1991. – V. 21. – P. 321–326.
471. Rani K.U. Distribution of enzymes in wheat flour mill streams / K.U. Rani, U.J.S. Prasada Rao, K. Leelavathi, P. Haridas Rao // *J Cereal Sci*. – 2001. – V. 34. – P. 233–242.
472. Randhawa H.S. Application of molecular markers to wheat breeding in Canada / H.S. Randhawa, M. Asif, C. Pozniak, J.M. Clarke, R.J. Graf, S.L. Fox, D.G. Humphreys, R.E. Knox, R.M. De Pauw, A.K. Singh, R.D. Cuthbert, P. Hucl, D. Spaner, P. Gupta // *Plant Breed*. – 2013. – V. 132. – P. 458–471.
473. Rauf S. Consequences of plant breeding on genetic diversity / S Rauf, A.A. Khan, J.A. Teixeira da Silva, A. Naveed // *Intern J Plant Breed*. – 2010. – V. 4. – P. 1–21.
474. Rawat N. Wheat Fhb1 encodes a chimeric lectin with agglutinin domains and a pore-forming toxin–like domain conferring resistance to *Fusarium* head blight / N. Rawat, M.O. Pumphrey, S. Liu, X. Zhang, V.K. Tiwari, K. Ando, H.N. Trick, W.W. Bockus, E. Akhunov, J.A. Anderson, B.S. Gill // *Nat Genet*. – 2016. – V. 48 (12). – P. 1576–1580.
475. Raya–González J. PHYTOCHROME AND FLOWERING TIME1/MEDIATOR25 regulates lateral root formation via auxin signalling in *Arabidopsis* / J. Raya–González, R. Ortiz–Castro, L. F. Ruíz–Herrera, K., Kazan, J. López–Bucio // *Plant Physiol*. – 2014. – V. 165. – P. 880–894.
476. Rebetzke G.J. Awns reduce grain number to increase grain size and harvestable yield in irrigated and rainfed spring wheat / G.J. Rebetzke, D.G. Bonnett, M.P. Reynolds // *J Exp Bot*. – 2016. – V. 67 (9). – P. 2573–2586.

477. Reeves P.H. A regulatory network for coordinated flower maturation / P.H. Reeves, C.M. Ellis, S.E. Ploense, M.-F. Wu, V. Yadav, D. Tholl, A. Chetelat, I. Haupt, B.J. Kennerley, C. Hodgens, E.E. Farmer, P. Nagpal, J.W. Reed // *PLoS Genetics*. – 2012. – V. 8. – Article e1002506. Режим доступа: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pgen.1002506>.
478. Ren C. A leaky mutation in *DWARF4* reveals an antagonistic role of brassinosteroid in the inhibition of root growth by jasmonate in *Arabidopsis* / C. Ren, C. Han, W. Peng, Y. Huang, Z. Peng, X. Xiong, Q. Zhu, B. Gao, D. Xie // *Plant Physiol*. – 2009. – V. 151. – P. 1412–1420.
479. Ren D. Effect of recombinant lipoxygenase on rheological properties of wheat dough and bread quality / D. Ren, Y. Xie, Z. Lu, C. Zhang, X. Bie, H. Zhao, F. Lu // *Food Sci*. – 2015. – V. 36. – P. 1–6.
480. Rhazi L. Sulfhydryl–disulfide changes in storage proteins of developing wheat grain; influence on the SDS–unextractable glutenin polymer formation / L. Rhazi, R. Cazalis, Y. Aussenac // *J Cereal Sci*. – 2003 – V. 38. – P. 3–13.
481. Rico M. ¹H NMR Assignment and global fold of napin BnIb, a representative 2S albumin seed protein / M. Rico, M. Bruix, C. Gonzales, R.I. Monsalve, R. Rodriguez // *Biochemistry*. – 1996. – V. 35. – P. 15672–15682.
482. Riechmann J.L. *Arabidopsis* transcription factors: genome–wide comparative analysis among eukaryotes / J.L. Riechmann, J. Heard, G. Martin, L. Reuber, C. Jiang, J. Keddie, L. Adam, O. Pineda, O.J. Ratcliffe, R.R. Samaha, R. Creelman, M. Pilgrim, P. Broun, J.Z. Zhang, D. Ghandehari, B.K. Sherman, G. Yu // *Science*. – 2000. – V. 290 (5499). – P. 2105–2110.
483. Riemann M. Exploring Jasmonates in the Hormonal Network of Drought and Salinity Responses / M. Riemann, R. Dhakarey, M. Hazman, B. Miro, A. Kohli, P. Nick // *Front Plant Sci*. – 2015. – V. 6. – Article 1077. Режим доступа: <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2015.01077>.
484. Rivero R.M. Cytokinin–dependent photorespiration and the protection of photosynthesis during water deficit / R.M. Rivero, V. Shulaev, E. Blumwald // *Plant Physiol*. – 2009. – V. 150(3). – P. 1530–1540.
485. Röder M.S. Fine mapping of the region on wheat chromosome 7D controlling grain weight / M.S. Röder, X.-Q. Huang, A. Börner // *Func Integr Genomics*. – 2008. – V. 8. – P. 79–86.
486. Rodriguez–Concepcion M. Immunolocalization of lipoxygenase in pea (*Pisum sativum* L.) carpels / M. Rodriguez–Concepcion, M.D. Gómez, J.P. Beltran // *Plant Cell Rep*. – 1996. – V. 15. – P. 620–626.
487. Rodriguez M.C.S. Mitogen–activated protein kinase signaling in plants / M.C.S. Rodriguez, M. Petersen, J. Mundy // *Ann Rev Plant Biol*. – 2010a. – V. 61. – P. 621–649.
488. Romeuf I. wDBTF: an integrated database resource for studying wheat transcription factor families I. Romeuf, D. Tessier, M. Dardevet, G. Branlard, G. Charmet, C. Ravel // *BMC Genomics*. – 2010. – V. 11. – Article 185. Режим доступа: <http://www.biomedcentral.com/1471-2164/11/185>.
489. Rooney W.L. Sorghum improvement–integrating traditional and new technology to produce improved genotypes / W.L. Rooney // *Adv Agro*. – 2004. – V. 83. – P. 37–109.

490. Rousset M., Brabant P., Kota R.S., Dubcovsky J., Dvorak J. Use of recombinant substitution lines for gene mapping and QTL analysis of bread making quality in wheat // *Euphytica*. – 2001. – V. 119. – P. 81–87.
491. Rudolph M. The lipoxygenase-dependent oxygenation of lipid body membranes is promoted by a patatin-type phospholipase in cucumber cotyledons / M. Rudolph, A. Schlereth, M. Körner, K. Feussner, E. Berndt, M. Melzer, E. Hornung, I. Feussner // *J Exp Bot*. – 2011. – V. 62 (2). – P. 749–760.
492. Rustgi S Genetic dissection of yield and its component traits using high-density composite map of wheat chromosome 3A: bridging gaps between QTLs and underlying genes / S. Rustgi, M.N. Shafqat, N. Kumar, P.S. Baenziger, M.L. Ali, I. Dweikat, B.T. Campbell, K.S. Gill // *PLoS ONE*. – 2013. – V. 8 (7). – Article e70526. Режим доступа: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0070526>.
493. Rymen B. Tuning growth to the environmental demands / B. Rymen, K. Sugimoto // *Curr Opin Plant Biol*. – 2012. – V. 15. – P. 683–690.
494. Salina E.A. The genome-specific subtelomeric repeats for study of introgressive lines *T. aestivum* x *Ae. speltoides* / E.A. Salina, I.G. Adonina, T.T. Efremova, I.F. Lapochkina, T.A. Pshenichnicova // *EWAC Newsletter. Proc. 11-th EWAC Conf.* – Novosibirsk, Russia, 2001. – P. 161–164.
495. Salvi S. The crop QTLome comes of age / S. Salvi, R. Tuberosa // *Curr Opin Biotechnol*. – 2015. – V. 32. – P. 179–185.
496. Sánchez-Corrienero Á. Singlet oxygen triggers chloroplast rupture and cell death in the zeaxanthin epoxidase defective mutant *aba1* of *Arabidopsis thaliana* under high light stress / Á. Sánchez-Corrienero, I. Sánchez-Vicente, S. González-Pérez, A. Corrales, A. Krieger-Liszkay, O. Lorenzo, J.B. Arellano // *Plant Physiol*. – 2017. – V. 216. – P. 188–196.
497. Saniewski M. Relationship between jasmonates and ethylene in regulation of some physiological processes in plants under stress conditions / M. Saniewski, J. Ueda, K. Miyamoto, H. Urbanek // *ZESZ. PROB. POST. NAUK ROL*. – 2002. – V. 481. – P. 99–112.
498. Sapirstein H.D. SDS protein gel test for prediction of bread loaf volume / H.D. Sapirstein, J. Suchy // *Cereal Chem*. – 1999. – V. 76. – P. 164–172.
499. Sarnowska E. The role of SWI/SNF chromatin remodeling complexes in hormone crosstalk / E. Sarnowska, D.M. Gratkowska, S.P. Sacharowski, P. Cwiek, T. Tohge, A.R. Fernie, J.A. Siedlecki, C. Koncz, T.J. Sarnowski // *Trends Plant Sci*. – 2016. – V. 21 (7). – P. 594–608.
500. Savchenko T. Functional convergence of oxylipin and abscisic acid pathways controls stomatal closure in response to drought / T. Savchenko, V.A. Kolla, C.-Q. Wang, Z. Nasafi, D.R. Hicks, B. Phadungchob, W.E. Chehab, F. Brandizzi, J. Froehlich, K. Dehesh // *Plant Physiol*. – 2014. – V. 164. – P. 1151–1160.
501. Schägger H. Analysis of molecular masses and oligomeric states of protein complexes by blue native electrophoresis and isolation of membrane protein complexes by two-dimensional native electrophoresis / H. Schägger, W.A. Cramer, G. von Jagow // *Anal Biochem*. – 1994. – V. 217 (2). – P. 220–230.
502. Schaller F. Enzymes of biosynthesis of octadecanoid-derived signaling molecules / F. Schaller // *J Exp Bot*. – 2001. – V. 52 (354). – P. 11–23.

503. Shibata D. Lipoxygenases / D. Shibata, A. Slusarenko, R. Casey, D. Hildebrand, E. Bell // Plant Mol Biol Rep. – 1994. – V. 12: CPGN Supplement. – P. 41–42.
504. Schuurink N.F. Expression of lipoxygenase isoenzymes in developing barley grains / N.F. Schuurink, J.R. van Mechelen // Plant Sci. – 1997. – V. 128. – P. 141–150.
505. Schweighofer A. The PP2C-type phosphatase AP2C1, which negatively regulates MPK4 and MPK6, modulates innate immunity, jasmonic acid, and ethylene levels in Arabidopsis / A. Schweighofer, V. Kazanaviciute, E. Scheikl, M. Teige, R. Doczi, H. Hirt, M. Schwanninger, M. Kant, R. Schuurink, F. Mauch, A. Buchala, F. Cardinale, I. Meskiene // Plant Cell. – 2007. – V. 19. – P. 2213–2224.
506. Schwechheimer C.C. Gibberellin signalling in plants (the extended version) / C.C. Schwechheimer // Front Plant Sci. – 2012. – V. 2. – Article 107. Режим доступа: <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2011.00107>.
507. Schmolke M. A new powdery mildew resistance allele at the Pm4 wheat locus transferred from einkorn (*Triticum monococcum*) / M. Schmolke, L. Hartl, V. Mohler, F. Zeller // Mol Breed. – 2012. – V.29 (2). – P. 449–456.
508. Seguela–Arnaud M. The Mediator complex subunits MED25/PFT1 and MED8 are required for transcriptional responses to changes in cell wall arabinose composition and glucose treatment in *Arabidopsis thaliana* / M. Seguela–Arnaud, C. Smith, M. C. Uribe, S. May, H. Fischl, N. McKenzie, M.W. Bevan // BMC Plant Biol. – 2015. – V. 15. – Article 215. Режим доступа: <https://doi.org/10.1186/s12870-015-0592-4>.
509. Sellammal R. Association and heritability studies for drought resistance under varied moisture stress regimes in backcross inbred population of rice / R. Sellammal, S. Raveendran, M. Robin // Rice Sci. – 2014. – V. 21. – P. 150–161.
510. Seo P.J. The MYB96 transcription factor mediates abscisic acid signaling during drought stress response in *Arabidopsis* / P.J. Seo, F. Xiang, M. Qiao, J.Y. Park, Y.N. Lee, S.G. Kim, Y.–H. Lee, W.J. Park, C.–M. Park // Plant Physiol. – 2009. – V.151. – P. 275–289.
511. Seo J.–S. OsbHLH148, a basic helixloop–helix protein, interacts with OsJAZ proteins in a jasmonate signaling pathway leading to drought tolerance in rice / J.–S. Seo, J. Joo, M.–J. Kim, Y.–K. Kim, B.H. Nahm, S.I. Song, J.–J. Cheong, J.S. Lee, J.–K. Kim, Y.D. Choi // Plant J. – 2011. – V. 65. – P. 907–921.
512. Seo D.H. Roles of four Arabidopsis U–Box E3 ubiquitin ligases in negative regulation of abscisic acid–mediated drought stress responses / D.H. Seo, M.Y. Ryu, F. Jammes, J.H. Hwang, M. Turek, B.G. Kang, J.M. Kwak, W.T.Kim // Plant Physiol. – 2012. – V. 160. – P. 556–568.
513. Seo D.H. The N–Terminal UND motif of the Arabidopsis U–Box E3 ligase PUB18 is critical for the negative regulation of ABA–mediated stomatal movement and determines its ubiquitination specificity for exocyst subunit Exo70B1 / D.H. Seo, M.Y. Ahn, K.Y. Park, E.Y.Kim, W.T. Kim // Plant Cell. – 2016. – V. 28. – P. 2952–2973.
514. Serrano I. Roles of E3 ubiquitin–ligases in nuclear protein homeostasis during plant stress responses / I. Serrano, L. Campos, S. Rivas // Front Plant Sci. – 2018. – V. 9. – Article 139. Режим доступа: <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00139>.
515. Schägger H. Analysis of molecular masses and oligomeric states of protein complexes by blue native electrophoresis and isolation of membrane protein complexes by two–

- dimensional native electrophoresis / H. Schägger, W.A. Cramer, G. von Jagow // *Anal Biochem.* – 1994. – V. 217 (2). – P. 220–230.
516. Schmolke M. A new powdery mildew resistance allele at *Pm4* wheat locus transferred from eicorn *Triticum monococcum* / M. Schmolke, V. Mohler, L. Hartl, F.J. Zeller, S.L.K. Hsam // *Mol Breed.* – 2012. – V. 29. – P. 449–456.
517. Shan X. The role of Arabidopsis rubisco activase in jasmonate-induced leaf senescence / X. Shan, J. Wang, L. Chua, D. Jiang, W. Peng, D. Xie // *Plant Physiol.* – 2011. – V. 155. – P. 751–764.
518. Shah Z.H. Redox and ionic homeostasis regulations against oxidative, salinity and drought stress in wheat (A systems biology approach) / Z.H. Shah, H.M. Rehman, T. Akhtar, I. Daur, M.A. Nawaz, M.Q. Ahmad, I.A. Rana, R.M. Atif, S.H. Yang, G. Chung // *Front. Genet.* – 2017. – V. 8. – Article 141. Режим доступа: <http://doi.org/10.3389/fgene.2017.00141>.
519. Sheard L.B. Jasmonate perception by inositol phosphate-potentiated COI1-JAZ co-receptor / L.B. Sheard, X. Tan, H. Mao, J. Withers, G. Ben-Nissan, T.R. Hinds, Y. Kobayashi, F.-F. Hsu, M. Sharon, J. Browse, S. Yang He, J. Rizo, G.A. Howe, N. Zheng // *Nature.* – 2010. – V. 46 (7322). – P. 400–405.
520. Shewry P.R. Disulphide bonds in wheat gluten proteins / P.R. Shewry, A.S. Tatham // *J Cereal Sci.* – 1997. – V. 25 (3). – P. 207–227.
521. Shewry P.R. Storage product synthesis and accumulation in developing grains of wheat / P.R. Shewry, C. Underwood, Y. Wan, A. Lovegrove, D. Bhandan, G. Toole, E.N.C. Mills, K. Denyer, R.A.C. Mitchell // *J Cereal Sci.* – 2009. – V. 50. – P. 106–112.
522. Shibata D. Lipoxygenases / D. Shibata, A. Slusarenko, R. Casey, D. Hildebrand, E. Bell // *Plant Mol. Biol. Rep.* – 1994. – V. 12: CPGN Supplement. – P. 41–42.
523. Shiiba K. Purification and characterization of lipoxygenase isozymes from wheat germ / K. Shiiba, Y. Negishi, K. Okada, S. Nagao // *Cereal Chem.* – 1991. – V. 68. – P. 115–122.
524. Shin J.H. The lipoxygenase gene family: a genomic fossil of shared polyploidy between *Glycine max* and *Medicago truncatula* / J.H. Shin, K. Van, D.H. Kim, K.D. Kim, Y.E. Jang, B.-S. Choi, M.Y. Kim, S.-H. Lee // *BMC Plant Biology.* – 2008. – V. 23. – Article 133. Режим доступа: <http://www.biomedcentral.com/1471-2229/8/133>.
525. Shoeva O.Y. The regulation of anthocyanin synthesis in the wheat pericarp / O.Y. Shoeva, E.I. Gordeeva, E.K. Khlestkina // *Molecules.* – 2014. – V. 19. – P. 20266–20279.
526. Shinozaki K. Gene networks involved in drought stress response and tolerance / K. Shinozaki, K. Yamaguchi-Shinozaki // *J Exp Bot.* – 2007. – V. 58. – P. 221–227.
527. Shukla S. Genomic regions associated with grain yield under drought stress in wheat (*Triticum aestivum* L.) / S. Shukla, K. Singh, R.V. Patil, S. Kadam, S. Bharti, P. Prasad, N.K. Singh, R. Khanna-Chopra // *Euphytica.* – 2015. – V. 203. – P. 449–467.
528. Siedow J.N. Plant lipoxygenase: structure and function / J.N. Siedow // *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol.* – 1991. – V. 42. – P. 145–188.
529. Simón M.R. Chromosomal location of genes encoding for resistance to septoria tritici blotch (*Mycosphaerella graminicola*) in substitution lines of wheat / M.R. Simón, A.J. Worland, P.C. Struik // *Neth J Agr Sci.* – 2005b. – V. 53. – P. 113–130.
530. Simon M.R. The use of wheat/goatgrass introgression lines for the detection of gene(s) determining resistance to septoria tritici blotch (*Mycosphaerella graminicola*) / M.R. Simon,

- F.M. Ayala, C.A. Cordo, M.S. Röder, A. Börner // *Euphytica*. – 2007. – V. 154. – P. 249–254.
531. Singh N.K. Linkage mapping of genes controlling endosperm storage proteins in wheat. 1. Genes on the short arms of group 1 chromosomes / N.K. Singh, K.W. Shepherd // *Theor. Appl. Genet.* – 1988. – V. 75. – P. 628–641.
532. Singh A. Stripe rust and leaf rust resistance QTL mapping, epistatic interactions, and co-localization with stem rust resistance loci in spring wheat evaluated over three continents / A. Singh, R.E. Knox, R.M. DePauw, A.K. Singh, R.D. Cuthbert, H.L. Campbell, S. Shorter, S. Bhavani // *Theor Appl Genet.* – 2014. – V. 127. – P. 2465–2477.
533. Singh D. Transcriptional regulation of drought response: a tortuous network of transcriptional factors / D. Singh, A. Laxmi // *Front Plant Sci.* – 2015. – V. 6. – Article 895. Режим доступа: <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2015.00895>.
534. Sinha A. K. Mitogen-activated protein kinase signaling in plants under abiotic stress / A. K. Sinha, M. Jaggi, B. Raghuram, N. Tuteja // *Plant Signaling & Behavior*. – 2011. – V. 6 (2). – P. 196–203.
535. Siriwardana C.L. NUCLEAR FACTOR Y, Subunit A (NF-YA) proteins positively regulate flowering and act through *FLOWERING LOCUS T*. / C.L. Siriwardana, N. Gnesutta, R.W. Kumimoto, D.S. Jones, Z.A. Myers, R. Mantovani, B.F. Holt // *PLoS Genet.* – 2016. – V. 12 (12). – Article e1006496. Режим доступа: <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006496>.
536. Skubacz A. The role and regulation of ABI5 (ABA-Insensitive 5) in plant development, abiotic stress responses and phytohormone crosstalk / A. Skubacz, A. Daszkowska-Golec, I. Szarejko // *Front Plant Sci.* – 2017. – V. 7. – Article 1884. Режим доступа: <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2016.01884>.
537. Smith J.J. Soluble lipoxygenase isoforms from tomato fruit / J.J. Smith, R. Linforth, G.A. Tucker // *Phytochemistry*. – 1997. – V. 45(3). – P. 453–458.
538. Snape J.W. Predicting new genes for flowering time in wheat by comparative mapping with barley / J.W. Snape // *EWAC Newsletter*. 2001. Novosibirsk. P. 37–42.
539. Sorensen S.B. Barley lipid transfer protein 1 is involved in beer foam formation / S.B. Sorensen, L.M. Bech, T.B. Muldbjerg, K. Breddam // *MBAA Technical Quarter.* – 1993. – V. 30. – P. 136–45.
540. Sourdille P. Linkage between RSLP markers and genes affecting kernel hardness in wheat / P. Sourdille, M.R. Perretant, G. Charmet, P. Leroy, M.F. Gautier, P. Joudrier, J.C. Nelson, M.E. Sorrells, M. Bernard // *Theor Appl Genet.* – 1996. – V. 93. – P. 580–586.
541. Spicher L. Essential role for phytyl kinase and tocopherol in tolerance to combined light and temperature stress in tomato / L. Spicher, J. Almeida, K. Gutbrod, R. Pipitone, P. Dörmann, G. Glauser, M. Rossi, F. Kessler // *J Exp Bot.* – 2017. – V. 68. – P. 5845–5856.
542. Sroan B.S. Mechanism of gas cell stabilization in breadmaking. II. The secondary liquid lamellae / B.S. Sroan, F. MacRitchie // *J Cereal Sci.* – 2009. – V. 49. – P. 41–46.
543. Sreenivasulu N. Contrapuntal role of ABA: does it mediate stress tolerance or plant growth retardation under long-term drought stress? / N. Sreenivasulu, V.T. Harshavardhan, G. Govind, C. Seiler, A. Kohli // *Gene*. – 2012. – V. 506. – P. 265–273.
544. Stamatakis K. Prostanoids with cyclopentenone structure as tools for the characterization of electrophilic lipid-protein interactomes / K. Stamatakis, D. Perez-Sala // *Ann N Y Acad Sci.* – 2006. – V. 1091. – P. 548–570.

545. Sterk P. Cell-specific expression of the carrot EP2 lipid transfer protein gene / P. Sterk, H. Booij, G.A. Schellekens, A. Van Kammen, S.C. De Vries // *Plant Cell*. – 1991. – V. 3. – P. 907–921.
546. Stotz H.U. TGA transcription factors and jasmonate-independent COI1 signalling regulate specific plant responses to reactive oxylipins / H.U. Stotz, S. Mueller, M. Zoeller, M. J. Mueller, S. Berger // *J Exp Bot*. – 2013. – V. 64 (4). – P. 963–975.
547. Stoyanova-Bakalova E. Differential effects of methyl jasmonate on growth and division of etiolated zucchini cotyledons / E. Stoyanova-Bakalova, P.I. Petrov, L. Gigova, T.I. Baskin // *Plant Biol*. – 2008. – V. 10 (4). – P. 476–484.
548. Su C. Manganese lipoxygenase, purification and characterization / C. Su, E.H. Oliw // *J Biol Chem*. – 1998. – V. 273 (21). – P. 1372–1379.
549. Su M. The LEA protein, ABR, is regulated by ABI5 and involved in dark-induced leaf senescence in *Arabidopsis thaliana* / M. Su, G. Huang, Q. Zhang, X. Wang, C. Li, Y. Tao, S. Zhang, J. Lai, C. Yang, Y. Wang // *Plant Sci*. – 2016. – V. 247. – P. 93–103.
550. Su Z.Q. Identification and development of a functional marker of *TaGW2* associated with grain weight in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) / Z.Q. Su, C.Y. Hao, L.F. Wang, Y.C. Dong, Z.Y. Zhang // *Theor Appl Gen*. – 2011. – V. 122. – P. 211–223.
551. Subirade M. Interaction of a non specific wheat lipid transfer protein with phospholipid monolayers imaged by fluorescence microscopy and studied by infrared spectroscopy / M. Subirade, C. Salesse, D. Marion, M. Pezolet // *Biophys J*. – 1995. – V. 69. – P. 974–978.
552. Suhita D. Cytoplasmic alkalization precedes reactive oxygen species production during methyl jasmonate- and abscisic acid-induced stomatal closure / D. Suhita, A.S. Raghavendra, J.M. Kwak, A. Vavasseur // *Plant Physiol*. – 2004. – V. 134. – P. 1536–1545.
553. Sundaravelpandian, K. PFT1, a transcriptional Mediator complex subunit, controls root hair differentiation through reactive oxygen species (ROS) distribution in *Arabidopsis* / K. Sundaravelpandian, N.N. Chandrika, W. Schmidt // *New Phytol*. – 2013. – V. 197. – P. 151–161.
554. Suzuki A. Lotus japonicus nodulation is photomorphogenetically controlled by sensing the red/far red (R/FR) ratio through jasmonic acid (JA) signaling / A. Suzuki, L. Suriyagoda, T. Shigeyama, A. Tominaga, M. Sasaki, Y. Hiratsuka, A. Yoshinaga, S. Arima, S. Agarie, T. Sakai, S. Inada, Y. Jikumaru, Y. Kamiya, T. Uchiumi, M. Abe, M. Hashiguchi, R. Akashi, S. Sato, T. Kaneko, S. Tabata, A.M. Hirsch // *PNAS*. – 2011. – V. 108. – P. 16837–16842.
555. Swiatek A. Differential effect of jasmonic acid and abscisic acid on cell cycle progression in tobacco BY-2 cells / A. Swiatek, M. Lenjou, D. Van Bockstaele, D. Inze, H. Van Onckelen // *Plant Physiol*. – 2002. – V. 128. – P. 201–211.
556. Takahashi F. The mitogen-activated protein kinase cascade MKK3-MPK6 is an important part of the jasmonate signal transduction pathway in *Arabidopsis* / F. Takahashi, R. Yoshida, K. Ichimura, T. Mizoguchi, S. Seo, M. Yonezawa, K. Maruyama, K. Yamaguchi-Shinozaki, K. Shinozaki // *Plant Cell*. – 2007. – V. 19. – P. 805–818.
557. Tardieu F. ‘White paper’ on plant phenotyping / F. Tardieu, U. Schurr // *The main outcome of the EPSO workshop on plant phenotyping*. – Jülich, 2009. – P. 1–4.
558. Thaler J.S. Evolution of jasmonate and salicylate signal crosstalk / J.S. Thaler, P.T. Humphrey, N.K. Whiteman // *Trends Plant Sci*. – 2012. – V. 17. – P. 260–270.

559. Thibodeaux C. J. Enzymatic chemistry of cyclopropane, epoxide, and aziridine biosynthesis / C.J. Thibodeaux, W.C. Chang, H.W. Liu // *Chemical Reviews*. – 2012. – V. 112 (3). – P. 1681–1709.
560. Thomas H. Crops that stay green / H. Thomas, C.M. Smart // *Ann Appl Biol*. – 1993. – V. 123. – P. 193–219.
561. Thornsberry J.M. *Dwarf8* polymorphisms associate with variation in flowering time / J.M. Thornsberry, M.M. Goodman, J. Doebley, S. Kresovich, D. Nielsen, E.S. Buckler // *Nat Genet*. – 2001. – V. 28. – P. 286–289.
562. Tian D. Role of trichomes in defense against herbivores: comparison of herbivore response to woolly and hairless trichome mutants in tomato (*Solanum lycopersicum*) / D. Tian, J. Tooker, M. Peiffer, S. Chung, G. Felton // *Planta*. – 2012. – V. 236. – P. 1053–1066.
563. Timmons T.M. Protein blotting and immunodetection / T.M. Timmons, B.S. Dunbar // *Methods Enzymol*. – 1990. – V. 182. – P. 679–701.
564. Tiriyaki I. An Arabidopsis mutant defective in jasmonate response is allelic to the auxin-signaling mutant *axr1* / I. Tiriyaki, P.E. Staswick // *Plant Physiol*. – 2002. – V. 130. – P. 887–894.
565. Tissier A. Glandular trichomes: what comes after expressed sequence tags? / A. Tissier // *Plant J*. – 2012. – V. 70. – P. 51–68.
566. Todd A.T. A functional genomics screen identifies diverse transcription factors that regulate alkaloid biosynthesis in *Nicotiana benthamiana* / A.T. Todd, E. Liu, S.L. Polvi, R.T. Pammett, J.E. Page // *Plant J*. – 2010. – V. 62. – P. 589–600.
567. Tosi P. Trafficking of storage proteins in developing grain of wheat / P. Tosi, M. Parker, C.S. Gritsch, R. Carzaniga, B. Martin, P.R. Shewry // *J Exp Bot*. – 2009. – V. 60. – P. 979–991.
568. Tranbarger T.J. The soybean 94-kilodalton vegetative storage protein is a lipoxygenase that is localized in paraveinal mesophyll cell vacuoles / T.J. Tranbarger, V.R. Franceschi, D.F. Hildebrand, H.D. Grimes // *Plant Cell*. – 1991. – V. 3. – P. 973–987.
569. Tranquilli G. Substitutions and deletions of genes related to grain hardness in wheat and their effect on grain texture / G. Tranquilli, J. Heaton, O. Chicaiza, J. Dubcovsky // *Crop Sci*. – 2002. – V. 42. – P. 1812–1817.
570. Triantaphylides C. Singlet oxygen is the major reactive oxygen species involved in photooxidative damage to plants / C. Triantaphylides, M. Krischke, F.A. Hoeberichts, B. Ksas, G. Gresser, M. Havaux, F. Van Breusegem, M.J. Mueller // *Plant Physiol*. – 2008. – V. 148. – P. 960–968.
571. Tsuchiya T. Cloning of chlorophyllase, the key enzyme in chlorophyll degradation: Finding of a lipase motif and the induction by methyl jasmonate / T. Tsuchiya, H. Ohta, K. Okawa, A. Iwamatsu, H. Shimada, T. Masuda, K. Takamiya // *PNAS*. – 1999. – V. 96. – P. 15262–15367.
572. Turnbull K.M. Endosperm texture in wheat / K.M. Turnbull, S. Rahman // *J Cereal Sci*. – 2002. – V. 36. – P. 327–337.
573. Turnbull K.M. Early expression of grain hardness in the developing wheat endosperm / K.M. Turnbull, D. Marion, T. Gaborit, R. Appels, S. Rahman // *Planta*. – 2003a. – V. 216. – P. 699–706.

574. Upadhyaya H.D. Inheritance of drought resistance related traits in two crosses of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) / H.D. Upadhyaya, S. Sharma, S. Singh, M. Singh // *Euphytica*. – 2011. – V. 177. – P. 55–66.
575. Vandenbroucke K. Hydrogen peroxide-induced gene expression across kingdoms: a comparative analysis / K. Vandenbroucke, S. Robbens, K. Vandepoele, D. Inze, Y. Van de Peer, F. Van Breusegem // *Mol Biol Evol.* – 2008. – V. 25. – P. 507–516.
576. Van der Graaff E. Transcription analysis of arabidopsis membrane transporters and hormone pathways during developmental and induced leaf senescence / E. van der Graaff, R. Schwacke, A. Schneider, M. Desimone, U.-I. Flügge, R. Kunze // *Plant Physiol.* – 2006. – V. 141. – P. 776–792.
577. Van Loon L.C. The family of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR1-type proteins / L.C. van Loon, E.A. Van Strien // *Physiol Mol Plant Pathol.* – 1999. – V. 55. – P. 85–97.
578. Van Mechelen J. R. Molecular characterization of two lipoxygenases from barley / J.R. van Mechelen, R.C. Schuurink, M. Smits, A. Graner, A.C. Douma, N.J.A. Sedee, N.F. Schmitt, B.E. Valk // *Plant Mol. Biol.* – 1999. – V. 39. – P. 1283–1298.
579. Van Oort M. Oxidases in baking. A review on the use of oxidases in breadmaking / M. van Oort // *Intern Food Ingredients*. – 1996. – V. 4. – P. 42–45.
580. Van Verk M. Prospecting for genes involved in transcriptional regulation of plant defenses, a bioinformatics approach / M. van Verk, J. Bol, H. Linthorst // *BMC Plant Biol.* – 2011. – V. 11. – Article 88. Режим доступа: <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2229-11-88>.
581. Valentin H. E. The Arabidopsis vitamin E pathway gene5-1 mutant reveals a critical role for phytyl kinase in seed tocopherol biosynthesis / H. E. Valentin, K. Lincoln, F. Moshiri, P.K. Jensen, Q. Qi, T.V. Venkatesh, B. Karunanandaa, S.R. Baszis, S. R. Norris, B. Savidge, K.J. Gruys, R.L. Last // *Plant Cell.* – 2006. – V. 18. – P. 212–224.
582. Vardar F. Immunolocalization of lipoxygenase in the anther wall cells of *Lathyrus undulatus* Boiss. during programmed cell death / F. Vardar, M. Ünal // *Not Bot Hort Agrobiol.* – 2011 a. – V. 39 (1). – P. 71–78.
583. Varshney R.K. Identification of eight chromosomes and a microsatellite marker on 1AS associated with QTL for grain weight in bread wheat / R.K. Varshney, M. Prasad, J.K. Roy, N.K. Harjit-Singh, H.S. Dhaliwal, H.S. Balyan, P.K. Gupta // *Theor Appl Genet.* – 2000. – V. 100. – P. 1290–1294.
584. Varshney R.K. Genomics-assisted crop improvement / R.K. Varshney, R. Tuberosa // Springer, 2008. – 502 p.
585. Vasu K. Microsatellite marker linked to a leaf rust resistance gene from *Triticum monococcum* L. transferred to bread wheat / K. Vasu, H. Singh, S. Singh, P. Chhuneja, H.S. Dhaliwal // *J Plant Biochem Biotech.* – 2001. – V. 10. – P. 127–132.
586. Verlotta A. Insight into durum wheat *Lpx-B1*: a small gene family coding for the lipoxygenase responsible for carotenoid bleaching in mature grains / A. Verlotta, V. De Simone, A. M. Mastrangelo, L. Cattivelli, R. Papa, D. Trono // *BMC Plant Biol.* – 2010. – V. 10. – Article 263. Режим доступа: <http://www.biomedcentral.com/1471-2229/10/263>.
587. Verlotta A. Secretory phospholipases A2 in durum wheat (*Triticum durum* Desf.): gene expression, enzymatic activity, and relation to drought stress adaptation / A. Verlotta // *Int J Mol Sci.* – 2013. – V. 14. – P. 5146–5169.

588. Verma V. Plant hormone-mediated regulation of stress responses / V. Verma, P. Ravindran, P.P. Kumar // *BMC Plant Biol.* – 2016. – V. 16. – Article 86. Режим доступа: <https://doi.org/10.1186/s12870-016-0771-y>.
589. Vicente J. Role of 9-lipoxygenase and α -dioxygenase oxylipin pathways as modulators of local and systemic defense / J. Vicente, T. Cascón, B. Vicedo, P. García-Agustín, M. Hamberg, C. Castresana // *Mol Plant.* – 2012. – V. 5. – P. 914–928.
590. Vishwakarma M.K. Introgression of the high grain protein gene *Gpc-B1* in an elite wheat variety of Indo-Gangetic plains through marker assisted backcross breeding / M.K. Vishwakarma, V.K. Mishra, P.K. Gupta, P.S. Yadav, H. Kumar, A.K. Joshi // *Curr Plant Biol.* – 2014. – V. 1. – P. 60–67.
591. Wall M.L. The tryptophan-rich domain of puroindoline is directly associated with the starch granule surface as judged by tryptic shaving and mass spectrometry / M.L. Wall, H.L. Wheeler, J.C. Smith, D. Figeys, I. Altonaar // *J Cereal Sci.* – 2010. – V. 52. – P. 115–120.
592. Wang C. Subcellular localization studies indicate that lipoxygenases 1 to 6 are not involved in lipid mobilization during soybean germination / C. Wang C., K.P.C. Croft, U. Järlfors, D.F. Hildebrand // *Plant Physiol.* – 1999. – 120. – P. 227–235.
593. Wang Y.H. Developing a model of plant hormone interactions / Y.H. Wang, H.R. Irving // *Plant Signal Behav.* – 2011. – V. 6 (4). – P. 494–500.
594. Wang C. A wheat WRKY transcription factor *TaWRKY10* confers tolerance to multiple abiotic stresses in transgenic tobacco / C. Wang, P. Deng, L. Chen, X. Wang, H. Ma, W. Hu, N. Yao, Y. Feng, R. Chai, G. Yang, G. He // *PLoS ONE.* – 2013. – V. 8. – Article e65120. Режим доступа: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0065120>.
595. Wang S.C. Characterization of polyploid wheat genomic diversity using a high-density 90,000 single nucleotide polymorphism array / S.C. Wang, D.B. Wong, K. Forrest, A. Allen, S.M. Chao, B.E. Huang, M. Maccaferri, S. Salvi, S. G. Milner, L. Cattivelli, A. M. Mastrangelo, A. Whan, S. Stephen, G. Barker, R. Wieseke, J. Plieske, International Wheat Genome Sequencing Consortium, M. Lillemo, D. Mather, R. Appels, R. Dolferus, G. Brown-Guedira, A. Korol, A. R. Akhunova, C. Feuillet, J. Salse, M. Morgante, C. Pozniak, M.-C. Luo, J. Dvorak, M. Morell, J. Dubcovsky, M. Ganal, R. Tuberosa, C. Lawley, I. Mikoulitch, C. Cavanagh, K. J. Edwards, M. Hayden, E. Akhunov // *Plant Biotechnol J.* – 2014. – V. 12. – P. 787–796.
596. Wang T. Salt-related MYB1 coordinates abscisic acid biosynthesis and signaling during salt stress in *Arabidopsis* / T. Wang, T. Tohge, A. Ivakov, B. Mueller-Roeber, A.R. Fernie, M. Mutwil, J. H.M. Schippers, S. Persson // *Plant Physiol.* – 2015. – V. 169. – P. 1027–1041.
597. Wang N. Comparative proteomic analysis of drought tolerance in the two contrasting Tibetan wild genotypes and cultivated genotype / N. Wang, J. Zhao, X. He, H. Sun, G. Zhang, F. Wu // *BMC Genomics.* – 2015. – V. 16. – Article 432. Режим доступа: <http://dx.doi.org/10.1186/s12864-015-1657-3>.
598. Wang X. Drought-responsive mechanisms in plant leaves revealed by proteomics / X. Wang, X. Cai, C. Xu, Q. Wang, S. Dai // *Int J Mol Sci.* – 2016. – V. 17. – Article 1706. Режим доступа: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms17101706>.
599. Wang H. Recent advances in utilizing transcription factors to improve plant abiotic stress tolerance by transgenic technology / H. Wang, W. Honglei, H. Shao, X. Tang // *Front Plant Sci.* – 2016. – V. 7. – P. 1–13.

600. Wang J. Wheat transcription factor TaAREB3 participates in drought and freezing tolerances in *Arabidopsis* / J. Wang, Q. Li, X. Mao, A. Li, R. Jing // *Int J Biol Sci.* – 2016. – V. 12. – P. 257–269.
601. Wang Y. Genome-wide characterization of JASMONATE-ZIM DOMAIN transcription repressors in wheat (*Triticum aestivum* L.) / Y. Wang, L. Qiao, J. Bai, P. Wang, W. Duan, S. Yuan, G. Yuan, F. Zhang, L. Zhang, C. Zhao // *BMC Genomics.* – 2017. – V. 18. – Article 152. Режим доступа: <http://dx.doi.org/10.1186/s12864-017-3582-0>.
602. Wang F. Transporter-mediated subcellular distribution in the metabolism and signaling of jasmonates / F. Wang, G. Yu, P. Liu // *Front Plant Sci.* – 2019. – V. 10. – Article. 390. Режим доступа: <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00390>.
603. Wanjugi H. Influence of puroindolines A and B individually and in combination on wheat milling and bread traits / H. Wanjugi, J.M. Martin, M.J. Giroux // *Cereal Chem.* – V. 84 (6). – P. 540–547.
604. Wasternack C. Jasmonates: biosynthesis, perception, signal transduction and action in plant stress response, growth and development. An update to the 2007 review in *Annals of Botany* / C. Wasternack, B. Hause // *Ann Bot.* – 2013. – V. 111. – P. 1021–1058.
605. Wasternack C. The oxylipin pathways: biochemistry and function / C. Wasternack, I. Feussner // *Annu Rev Plant Biol.* – 2018. – V. 69. – P. 363–386.
606. Weber H. *Arabidopsis thaliana* BTB/POZ-MATH proteins interact with members of the ERF/AP2 transcription factor family / H. Weber, H. Hellmann // *FEBS.* – 2009. – V. 276. – P. 6624–6635.
607. Wei B. *Dreb1* genes in wheat (*Triticum aestivum* L.): development of functional markers and gene mapping based on SNPs / B. Wei, R. Jing, C Wang, J. Chen, X. Mao, X. Chang, J. Jia // *Mol Breed.* – 2009. – V. 23. – P. 13–22.
608. Wei J. Antagonism between herbivore-induced plant volatiles and trichomes affects tritrophic interactions / J. Wei, L. Yan, Q.I.N. Ren, C. Li, F. Ge, L.E. Kang // *Plant Cell Environ.* – 2013. – V. 36. – P. 315–327.
609. Wennman, A. Crystal structure of manganese lipoxygenase of the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae* / A. Wennman, E.H. Oliw, S. Karkehabadi, Y. Chen // *J Biol Chem.* – 2016. – V. 291. – P. 8130–8139.
610. Werner T. Root-specific reduction of cytokinin causes enhanced root growth, drought tolerance, and leaf mineral enrichment in *Arabidopsis* and tobacco / T. Werner, E. Nehnevajova, I. Kollmer, O. Novak, M. Strnad, U. Kramer, T. Schmölling // *Plant Cell.* 2010. – V. 22. – P. 3905–3920.
611. Wettstein D. Chlorophyll-letale und der submikroskopische Form wechsel der Plastiden / D. Wettstein // *Exp Cell Res.* – 1957. – V. 12. – P. 427–506.
612. Wilkinson S. Drought, ozone, ABA and ethylene: new insights from cell to plant to community / S. Wilkinson, W.J. Davies // *Plant Cell Environ.* – 2010. – V. 4. – P. 510–525.
613. William H.M. Wheat breeding assisted by markers: CIMMYT's experience / H.M. William, R. Trethowan, E.M. Crosby-Galvan // *Euphytica.* – 2007. – V. 157. – P. 307–319.
614. Wu X. Genetic insight into yield associated traits of wheat grown in multiple rain fed environments / X. Wu, X. Chang, R. Jing // *PLoS ONE.* – 2012. – V. 7. – Article e31249. Режим доступа: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031249>.

615. Xie D.X. *COII*: an Arabidopsis gene required for jasmonate-regulated defense and fertility / D.X. Xie, B.F. Feys, S. James, M. Nieto-Rostro, J.G. Turner // *Science*. – 1998. – V. 280. – P. 1091–1094.
616. Xin Z.Y. Level changes of jasmonic, abscisic and indole-3yl-acetic acids in maize under desiccation stress / Z.Y. Xin, X. Zhou, P.E. Pilet // *J Plant Physiol*. – 1997. – V. 151 (1). – P. 120–124.
617. Xu Y.-F. QTL mapping for yield and photosynthetic related traits under different water regimes in wheat / Y.-F. Xu, S.-S. Li, L.-H. Li, F.-F. Ma, X.-Y. Fu, Z.-L. Shi, H.-X. Xu, P.-T. Ma, D.-G. An // *Mol Breed*. – 2017. – V. 37. – Article 34. Режим доступа: <https://doi.org/doi:10.1007/s11032-016-0583-7>.
618. Yamamoto S. Arachidonate 12-lipoxygenases / S. Yamamoto, H. Suzuki, N. Ueda // *Prog Lipid Res*. – 1997. – V. 36. – P. 23–41.
619. Yang D.-L. Plant hormone jasmonate prioritizes defense over growth by interfering with gibberellin signaling cascade / D.-L. Yang, J. Yao, C.-S. Mei, X.-H. Tong, L.-J. Zeng, Q. Li, L.-T. Xiao, T. Sun, J. Li, X.-W. Deng, C.M. Lee, M.F. Thomashow, Y. Yang, Z. He, S.Y. He // *PNAS*. – 2012. – V. 109 (19). – Article E1192–200. Режим доступа: <https://doi.org/10.1073/pnas.1201616109>.
620. Yang W. Post-translational control of ABA signalling: the roles of protein phosphorylation and ubiquitination / W. Yang, W. Zhang, X. Wang // *Plant Biotechnol J*. – 2017. – V. 15. – P. 4–14.
621. Yordanov I. Plant response to drought, acclimation, and stress tolerance / I. Yordanov, V. Velikova, V. Tsone // *Photosynthetica*. – 2000. – V. 30. – P. 171–186.
622. Yoshida Y. Jasmonic acid control of *GLABRA3* links inducible defense and trichome patterning in *Arabidopsis* / Y. Yoshida, R. Sano, T. Wada, J. Takabayashi, K. Okada // *Development*. – 2009. – V. 136. – P. 1039–1048.
623. Yoshida T. AREB1, AREB2, and ABF3 are master transcription factors that cooperatively regulate ABRE-dependent ABA signaling involved in drought stress tolerance and require ABA for full activation / T. Yoshida, Y. Fujita, H. Sayama, S. Kidokoro, K. Maruyama, J. Mizoi, K. Shinozaki, K. Yamaguchi-Shinozaki // *Plant J*. – 2010. – V. 61. P. 672–685.
624. Yu Z.-X. The jasmonate-responsive AP2/ERF transcription factors *AaERF1* and *AaERF2* positively regulate artemisinin biosynthesis in *Artemisia annua* L. / Z.-X. Yu, J.-X. Li, C.-Q. Yang, W.-L. Hu, L.-J. Wang, X.-Y. Chen // *Mol Plant*. – 2012. – V. 5. – P. 353–365.
625. Yubero-Serrano E.-M. Identification of a strawberry gene encoding a non-specific lipid transfer protein that responds to ABA, wounding and cold stress / E.-M. Yubero-Serrano, E. Moyano, N. Medina-Escobar, J. Munoz-Blanco, J.-L. Caballero // *J Exp Bot*. – 2003. – V. 54 (389). – P. 1865–1877.
626. Zaharieva M. Cultivated emmer wheat (*Triticum dicoccon* Schrank), an old crop with promising future: a review / M. Zaharieva, N.G. Ayana, A. Al-Hakimi, S.C. Misra, P. Monneveux // *Gen Res Crop Evol*. – 2010. – V. 57. – P. 937–962.
627. Zaharieva M. Cultivated einkorn wheat (*Triticum monococcum* L. subsp. *monococcum*): the long life of a founder crop of agriculture / M. Zaharieva, P. Monneveux // *Gen Res Crop Evol*. – 2014. – V. 61. – P. 677–706.

628. Zhang Z. Patterns of nucleotide substitution, insertion and deletion in the human genome inferred from pseudogenes / Z. Zhang, M. Gerstein // *Nucl Acids Res.* – 2003. – V. 31. – P. 5338–5348.
629. Zhang Y. Wound-induced endogenous jasmonates stunt plant growth by inhibiting mitosis / Y. Zhang, J.G. Turner // *PLoS ONE.* – 2008. – V. 3. – Article e3699. Режим доступа: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0003699>.
630. Zhang W. QTL analysis of pasta quality using a composite microsatellite and SNP map of durum wheat / W. Zhang, S. Chao, F. Manthey, O. Chicaiza, J.C. Brevis, V. Echenique, J. Dubcovsky // *Theor Appl Genet.* – 2008. – V. 117. – P. 1361–1377.
631. Zhang X.-c. Molecular characterization of a defense-related AMP-binding protein gene, OsBIABP1, from rice / X.-c. Zhang, X. Yu, H.-j. Zhang, F.-m. Song, J. Zhejiang // *Univ Sci B.* – 2009. – V. 10 (10). – P. 731–739.
632. Zhang A.Y. Nitric oxide mediates brassinosteroid-induced ABA biosynthesis involved in oxidative stress tolerance in maize leaves / A.Y. Zhang, J. Zhang, J.H. Zhang, N.H. Ye, H. Hang, M.P. Tan, M. Jiang // *Plant Cell Physiol.* – 2011. – V. 52. – P. 181–192.
633. Zhang H. The basic helix-loop-helix transcription factor CrMYC2 controls the jasmonate-responsive expression of the ORCA genes that regulate alkaloid biosynthesis in *Catharanthus roseus* / H. Zhang, S. Hedhili, G. Montiel, H. Zhang, S. Hedhili, G. Montiel, Y. Zhang, G. Chatel, M. Pré, P. Gantet, J. Memelink // *Plant J.* – 2011. – V. 67. – P. 61–71.
634. Zhang C.Y. Allelic variants at the locus on wheat chromosome 2DL and their association with yellow pigment content / C.Y. Zhang, C.H. Dong, X.Y. He, L.P. Zhang, X.C. Xia, Z.H. He // *Crop Sci.* – 2011. – V. 51. – P. 1580–1590.
635. Zhang L. A wheat R2R3-MYB gene, TaMYB30-B, improves drought stress tolerance in transgenic *Arabidopsis* / L. Zhang, G. Zhao, C. Xia, J. Jia, X. Liu, X. Kong // *J Exp Bot.* – 2012. – V. 63. – P. 5873–5885.
636. Zhang Z. An R2R3 MYB transcription factor in wheat, TaPIMP1, mediates host resistance to *Bipolaris sorokiniana* and drought stresses through regulation of defense- and stress-related genes / Z. Zhang, X. Liu, X. Wang, M. Zhou, X. Zhou, X. Ye, X. Wei // *New Phytol.* – 2012. – V. 196. – P. 1155–1170.
637. Zhang X. Two novel RING-type ubiquitin ligases, RGLG3 and RGLG4, are essential for jasmonate-mediated responses in *Arabidopsis* / X. Zhang, Q. Wu, J. Ren, W. Qian, S. He, K. Huang, X. Yu, Y. Gao, P. Huang, C. An // *Plant Physiol.* – 2012b. – V. 160. – P. 808–822.
638. Zhang H. Signal transduction in leaf senescence / H. Zhang, C. Zhou // *Plant Mol. Biol.* – 2013. – V. 82. – P. 539–545.
639. Zhang K. Association analysis of genomic loci important for grain weight control in elite common wheat varieties cultivated with variable water and fertiliser supply / K. Zhang, J. Wang, L. Zhang, C. Rong, F. Zhao, T. Peng, H. Li, D. Cheng, X. Liu, H. Qin, A. Zhang, Y. Tong, D. Wang // *PLoS ONE.* – 2013. – V. 8. – Article e57853. Режим доступа: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0057853>.
640. Zhang L. A novel wheat bZIP transcription factor, *TabZIP60*, confers multiple abiotic stress tolerances in transgenic *Arabidopsis* / L. Zhang, C. Xia, G. Zhao, J. Liu, J. Jia, X. Kong // *Physiol Plant.* – 2015. – V. 153. – P. 538–554.

641. Zhang F. Molecular characterization of lipoxygenase genes on chromosome 4BS in Chinese bread wheat (*Triticum aestivum* L.) / F. Zhang, F. Chen, P. Wu, N. Zhang, D. Cui // *Theor Appl Genet.* – 2015. – V. 128. – P. 1467–1479.
642. Zhang L.N. The novel wheat transcription factor TaNAC47 enhances multiple abiotic stress tolerances in transgenic plants / L.N. Zhang, L. Zhang, C. Xia, G. Zhao, J. Jia, X. Kong // *Front Plant Sci.* – 2016. – V. 6. – Article 1174. Режим доступа: <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2015.01174>.
643. Zhao J. Identification and characterization of the EXO70 gene family in polyploid wheat and related species / J. Zhao, X. Zhang, W. Wan, H. Zhang, J. Liu, M. Li, H. Wang, J. Xiao, X. Wang // *Int J Mol Sci.* – 2019. – V. 20. – Article 60. Режим доступа: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms20010060>.
644. Zheng X.Y. Coronatine promotes *Pseudomonas syringae* virulence in plants by activating a signaling cascade that inhibits salicylic acid accumulation / X.Y. Zheng, N.W. Spivey, W. Zeng, P.P. Liu, Z.Q. Fu, D.F. Klessig, S.Y. He, X. Dong // *Cell Host Microbe.* – 2012. – V. 11. – P. 587–596.
645. Zheng W.Y. Variations of LOX and PPO activities and carotenoid content as well as their influence on whole flour color in common wheat / W.Y. Zheng, F. Wang, H.Q. Si, W.M. Zhang, D.N. Yao // *Scientia Agricultura Sinica.* – 2013. – V. 46 (6). – P. 1087–1094.
646. Zheng X The wheat GT factor *TaGT2L1D* negatively regulates drought tolerance and plant development / X. Zheng, H. Liu, H. Ji, Y. Wang, B. Dong, Y. Qiao, M. Liu, X. Li // *Sci Rep.* – 2016. – V. 6. – Article 27042. Режим доступа: <http://dx.doi.org/10.1038/srep27042>.
647. Zhu L. Rapid mobilization of membrane lipids in wheat leaf sheaths during incompatible interactions with Hessian Fly / L. Zhu, X. Liu, H. Wang, C. Khajuria, J.C. Reese, R.J. Whitworth, R. Welti, M–S. Chen // *Mol Plant–Microbe Interac (MPMI).* – 2012. – V. 25 (7). – P. 920–930.
648. Zhu X. WRKY transcription factors in wheat and their induction by biotic and abiotic stress / X. Zhu, S. Liu, M. Meng, L. Qin, L. Kong, G. Xia // *Plant Mol Biol Rep.* – 2013. – V. 31. – P. 1053–1067.
649. Ziegler J. Alkaloid biosynthesis: Metabolism and trafficking / J. Ziegler, P.J. Facchini // *Annu Rev Plant Biol.* – 2008. – V. 59. – P. 735–769.
650. Zienkiewicz A. New insights into the early steps of oil body mobilization during pollen germination / A. Zienkiewicz, K. Zienkiewicz, J.D. Rejón, M.I. Rodríguez–García, A.J. Castro // *J Exp Bot.* – 2013. – V. 64. – P. 293–302.
651. Zimmerman D.C. Hydroperoxide isomerase. A new enzyme of lipid metabolism / D.C. Zimmerman, B.A. Vick // *Plant Physiol.* – 1970. – V. 3. P. – 445–453.
652. Zoeller M. Lipid profiling of the arabidopsis hypersensitive response reveals specific lipid peroxidation and fragmentation processes: biogenesis of pimelic and azelaic acid / M. Zoeller, N. Stingl, M. Krischke, A. Fekete, F. Waller, S. Berger, M.J. Mueller // *Plant Physiol.* – 2012. – V. 160. – P. 365–378.