

**Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и
генетики Сибирского отделения Российской академии наук»
(ИЦиГ СО РАН)**

На правах рукописи

КРУЧИНИНА ЮЛИЯ ВЛАДИМИРОВНА

**Генетический анализ архитектоники колоса
пшениц и его компьютерное фенотипирование**

1.5.7. – генетика (03.02.07).

**Диссертация на соискание учёной степени
кандидата биологических наук**

Научный руководитель:

д.б.н., академик РАН

Гончаров Николай Петрович

Новосибирск, 2024 г.

Содержание

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	16
1.1. Архитектура и архитектоника растений	16
1.2. Архитектоника и таксономия пшеницы	18
1.3. Влияние доместикации на архитектонику пшеницы	23
1.4. Фенотипирование	27
1.4.1. Фенотипирование в селекции и генетике	27
1.4.1.1. Гексаплоидные виды пшеницы $2n = 6x = 42$	31
1.4.1.2. Тетраплоидные виды пшеницы $2n = 4x = 28$	36
1.4.1.3. Диплоидные виды пшеницы $2n = 2x = 14$	46
1.4.2. Фенотипирование в систематике пшениц	51
1.4.3. Цифровые коллекции	52
1.5. Архитектоника и нейронные сети	55
1.5.1. Современные компьютерные методы фенотипирования	56
1.5.2. Сверточные нейронные сети	57
Заключение к обзору литературы	60
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	65
2.1. Растительный материал	65
2.2. Условия проведения эксперимента	66
2.2.1. Гидропонная теплица	66
2.2.2. В условиях парника	67
2.3. Методы генетического анализа	68
2.3.1. Гибридологический анализ	68
2.3.2. Выделение ДНК, ПЦР-амплификация и клонирование генов <i>Btr-1</i>	68
2.4. Метод компьютерного фенотипирования архитектоники колоса	70

2.5. Оценка количественных характеристик колосьев	72
2.6. Оценка качественных характеристик колосьев.....	75
2.7. Статистический анализ.....	75
2.8. Метеоусловия в годы проведения экспериментов	76
2.8.1. Яровой посев (2021г.)	77
2.8.2. Яровой посев (2022г.)	78
2.8.3. Яровой посев (2023г.)	80
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ	83
3.1. Фенотипирование архитектоники формы колоса	83
3.1.1. Оценка точности компьютерного фенотипирования колоса	83
3.1.2. Распределение образцов по признакам и ординация цифровых изображений.....	85
3.1.3. Фенотипирование видоспецифических признаков пшеницы	88
3.2. Изучение наследования видоспецифических признаков у тетраплоидных видов пшениц ($2n=28$)	96
3.2.1. Изучение наследования видоспецифических признаков у <i>T. aestivum</i>	98
3.2.2. Изучение наследования видоспецифических признаков у <i>T. durum</i>	99
3.2.3. Изучение наследования видоспецифических признаков у <i>T. dicoccum</i>	100
3.2.4. Изучение наследования видоспецифических признаков у <i>T. polonicum</i>	102
3.2.5. Изучение наследования видоспецифических признаков у <i>T. carthlicum</i>	104
3.2.6. Изучение ломкоколосости у тетраплоидных видов пшениц ($2n=28$)	105
3.2.6.1. Идентификация аллелей гена <i>Btr1-A</i>	105
3.2.6.2. Идентификация аллелей <i>Btr1-B</i>	107
3.2.6.3. Гены, отвечающие за доместикацию у тетраплоидных видов пшениц.....	109
3.3. Создание цифровой коллекции видоспецифических признаков колосьев пшеницы	116

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ	121
4.1. Фенотипирование видоспецифических признаков пшеницы разного уровня плоидности	121
4.2. Изучение наследования видоспецифических признаков у тетраплоидных видов пшениц ($2n=28$)	121
4.2.1. Наследование видоспецифических признаков у <i>T. aethiopicum</i>	122
4.2.2. Наследования видоспецифических признаков у <i>T. durum</i>	123
4.2.3. Наследования видоспецифических признаков у <i>T. dicoccum</i>	124
4.2.4. Наследования видоспецифических признаков у <i>T. polonicum</i>	125
4.2.5. Наследования видоспецифических признаков у <i>T. carthlicum</i>	126
4.3. Изучение ломкоколосости у тетраплоидных видов пшениц ($2n=28$) ..	127
4.4. Фенотипирование архитектоники формы колоса и аннотирование цифровой коллекции колосьев видов пшениц	130
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	133
ВЫВОДЫ	135
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	137
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	138

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность

Пшеница является одной из трёх наиболее широко возделываемых сельскохозяйственных культур в мире [1]. В Российской Федерации она занимает доминирующее положение, составляя основу зернового комплекса страны [1].

Одно из важнейших направлений современной генетики возделываемых растений, в том числе и пшеницы (род *Triticum* L.), – всестороннее генетическое и филогенетическое изучение, расширение и эффективное использование их биоразнообразия и вовлечение в него пула генов дикорастущих видов-сородичей. Согласно результатам новейших исследований, генетическое разнообразие важных для сельского хозяйства растений несёт наибольшие потери на этапе их введения в культуру [2; 3]. Следовательно, рациональное сохранение генного пула таких видов является очень важным трендом [2]. Именно поэтому, исследования, посвящённые определению аутентичности образцов и видов пшениц для сохранения и последующего эффективного использования в генетике, ботанике и селекции, становятся исключительно актуальными [4]. Для создания естественных классификаций таких видов, необходимо в полной мере провести описание всех существующих мелких и крупных таксонов [5] и свести информацию о них в общедоступные цифровые коллекции (ЦК). Применение такого подхода полезно как для экспериментальных работ, так и для селекции и апробации сортообразцов и генофондов пшениц. Знание о материале, с которым работает исследователь, а также сведения о том, как подробно его необходимо изучать определяет эффективность и успех дальнейшей работы. В настоящий момент у значительной части сельскохозяйственных растений, в том числе и пшениц (см., например, обзор Feldman, Levy, 2023), однозначно не определены объёмы видов и родов [6]. При изучении систематики таких растений особенно чётко

проявляется проблема укрупнения-дробления таксонов. Именно поэтому принципиально важно, чтобы естественная классификация каждого конкретного рода сельскохозяйственно значимых растений, к которым относится и пшеница, отражала бы их видовую и внутривидовую структуру [7], которую необходимо не только корректно описывать, но и эффективно использовать в исследованиях и практической работе.

У видов пшениц видоспецифическими (таксономически значимыми) признаками являются, в подавляющем большинстве, признаки морфологии колоса, определяющие его архитектуру [7]. Оценка колоса пшениц в современных исследованиях выполняется экспертом на основе визуального анализа и требует существенных затрат времени, при том, что в таких экспериментах проводится анализ тысяч растений [8]. Поэтому автоматизация этого процесса является актуальной для ботаники, генетики и селекции. Реализация технологий анализа цифровых изображений, создание баз данных (БД) для организации хранения информации и её последующего анализа при помощи алгоритмов машинного обучения в совокупности, позволит повысить эффективность фенотипирования колосьев [9; 10].

Цель исследования:

Провести всестороннее изучение таксономически значимых (классификационных) признаков, определяющих архитектуру колоса, у ди-, тетра- и гексаплоидных видов пшениц, изучить их фенотипическое проявление и наследование, и создать на основе полученных данных всеобъемлющую цифровую коллекцию типовых колосьев видов пшениц всех уровней ploидности рода *Triticum* L. для их автоматизированного определения (классификации).

Задачи:

1. Выявить таксономически значимые морфологические признаки, определяющие архитектуру колоса (спельтоидность, компактность,

тетраостость, полоникумность, ветвистоколосость, округлозёрность) на трёх уровнях плоидности пшениц, охарактеризовать их количественно и оценить возможность их использования для автоматизированного определения видов и их эффективного верифицирования;

2. Оценить вклад видоспецифических признаков растений пшеницы в фенотипическое проявление морфологии колоса и определить характер их наследования у растений пшеницы, определить их генетический контроль с целью получения устойчивых классификаций и их использования для автоматического разделения видов;

3. Создать цифровую коллекцию по морфологии колоса, отражающую полиморфизм у видов пшениц всех уровней плоидности;

4. На основании выбранных базисных признаков аннотировать цифровую коллекцию колосьев видов пшениц, оценить её информативность и осуществить её тестирование посредством разделения цифровых изображений по группам плоидности пшениц.

Научная новизна

Изучен полиморфизм и наследование видоспецифических признаков одновременно на всех уровнях плоидности пшениц у конкретных видов:

- гексаплоидных - *T. aestivum* L., *T. compactum* Host, *T. antiquorum* Heer ex Udacz., *T. spelta* L., *T. petropavlovskyi* Udacz. et Migusch., *T. yunnanense* King ex S.L. Chen, *T. macha* Dek. et Men., *T. sphaerococcum* Perciv., *T. vavilovii* Jakubz. – спельтоидность, компактность, округлозёрность, ветвистоколосость;
- тетраплоидных - *T. durum* Desf., *T. dicoccoides* (Körn. ex Aschers. et Graebn.) Schweinf., *T. aethiopicum* Jakubz., *T. timopheevii* (Zhuk.) Zhuk., *T. polonicum* L., *T. turgidum* L., *T. dicoccum* Schrank ex Schuebl., *T. militinae* (Zhuk. et Migusch.) Valdes & H. Scholz, *T.*

carthlicum Nevski – спельтоидность, тетраостость, полоникумность, ветвистоколосость;

- и диплоидных - *T. monococcum* L., *T. urartu* Thum. ex Gandil., *T. boeoticum* Boiss., *T. sinskajae* A. Filat. et Kurk. – спельтоидность,

и установлены базисные, для автоматического разделения с использованием нейронных сетей, признаки (индексы округлости и закруглённости, периметр колоса без остей, длина ломанной линии вдоль оси колоса, площадь остей и др.).

Впервые создана цифровая коллекция колосьев видов пшениц всех уровней плоидности, не имеющая аналогов в мире, проведено её аннотирование для последующего тестирования. С помощью созданной цифровой коллекции с использованием биоинформатических методов и нейронных сетей показана возможность эффективного разделения образцов пшениц по уровням плоидности и секциям рода *Triticum* L.

Теоретическая и практическая значимость

Анализ наследования видоспецифических (таксономически значимых) морфологических признаков колоса у растений разных видов пшеницы позволит определить наиболее значимые классификационные признаки на всех уровнях плоидности рода *Triticum* L. и предложить их использование для автоматического разделения видов.

С использованием, созданной цифровой коллекции видов пшениц показана возможность с применением биоинформатических методов, нейронных сетей и машинного обучения, автоматизированного установления видов пшеницы, что является необходимым для высокопроизводительного фенотипирования.

Сведения о наследовании и проявлении морфометрических характеристик колоса могут быть использованы в селекционной работе и

генетических исследованиях, при проведении интрогрессированной гибридизации в роде *Triticum* L.

Свободный доступ к оцифрованным коллекциям позволит актуализировать знания о таксономии, систематике растений и определить аутентичность хранящихся в них образцов.

Положения, выносимые на защиту:

1. Таксономически значимые признаки, определяющие архитектуру колоса пшениц – спельтоидность, компактность, округлозёрность, ветвистоколосость, тетраостость и полоникумность, наследуются у гексаплоидных и тетраплоидных видов по моногенному типу и могут быть использованы как реперные для определения видовой принадлежности пшениц.

2. Количественные параметры признаков, описывающих у пшениц форму и параметры колоса (округлость и закруглённость, периметр колоса без остей, длина ломаной линии вдоль оси колоса) и площадь остей, являются видоспецифическими и могут быть использованы для автоматического разделения пшениц по уровню плоидности.

3. Создана цифровая коллекция колосьев пшениц, отражающая изменчивость в роде *Triticum* L. по архитектонике колоса, являющаяся основой цифрового классификатора, использование которого позволяет с высокой вероятностью проводить фенотипирование растений пшениц по уровню плоидности и видовой принадлежности.

Методы исследования:

Для проведения исследований были использованы следующие методы:

Гибридологический анализ. Гибридологический анализ использовали для выявления стабильно проявляющихся видоспецифических признаков. Ввиду

того, что большинство этих признаков контролируется по моногенному типу и имеет чёткое фенотипическое проявление, гибридологический анализ являлся незаменимым и основным видом анализа для проведения детальной классификации. При его проведении изучали расщепление в F_2 гибридов.

Метод фенотипирования архитектоники колоса. Колосья фотографировали согласно 2 протоколам (протокол «на столе» и протокол «на прищепке»). В область каждого кадра помещается ColorChecker, позволяющая произвести цветовую коррекцию изображения. Учитывая совокупность разных протоколов съёмки и проекций колоса, за каждым растением фиксировалось до пяти фотографий его колоса. После фотографирования растений образцов пшеницы, полученные фотографии помещали в базу данных, где они дополнительно обрабатывались программами анализа изображений.

Оценка количественных характеристик колосьев. На основе анализа изображений, а также при помощи программы WERecognizer была произведена комплексная оценка количественных характеристик параметров колосьев. Для определения индекса плотности колоса были использованы наиболее информативные признаки модели, а также общие признаки формы и остей (Awns area, Circularity, Roundness, Perimeter, Rachis length, x_{u2} , x_{b2} , y_{u2} , y_{bm}). Для ординации изображений колосьев был применён нелинейный алгоритм снижения размерности - метод t-SNE. Данный метод позволяет оценить распределение колосьев в пространстве анализируемых признаков. Изображение каждой проекции одного колоса расценивалось как отдельный объект.

Оценка качественных характеристик колосьев. Оценка ряда качественных характеристик колоса поддаётся визуальной оценке и не требует использования каких-либо дополнительных методов. Были изучены следующие признаки: форма колоса, ветвистоколосость,

остистость/безостость, тетраостость, спельтоидность, полоникумность, компактность.

Статистический анализ. Соответствие характера расщепления теоретически ожидаемому, анализировалось с помощью метода Пирсона хи-квадрат (χ^2). Статистическая обработка данных выполнена с использованием программы Excel, версия: 14.0.7128.5000 (32-разрядная). Во всех процедурах статистического анализа критический уровень значимости нулевой гипотезы (p) принимался равным 0.05.

Выделение ДНК, ПЦР-амплификация и клонирование генов ломкоколосости *Btr-1*. Мини-набор DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN, США) был использован для выделения общей ДНК из 100 мг листьев. Были разработаны геном-специфичные праймеры для амплификации генов *Btr1-A* и *Btr1-B/Btr1-S*. Дополнительный праймер, *Btr1-BR2* был разработан для амплификации 5' UTR и частичной последовательности кодирующей области *Btr1-B/Btr1-S*. Реакции ПЦР проводили в объеме 20 мкл, содержащем 20 нг общей геномной ДНК, 10 mM Трис-HCl (pH 8.9), 1 mM (NH₄)₂SO₄, 1.5 mM MgCl₂, 200 мкМ dNTPs, 0.5 мкМ праймеров и 1 единицу Taq ДНК-полимеразы. Анализ продуктов ПЦР производился методом электрофореза в 1% агарозном геле и очищался с использованием QIAquick - набора (QIAGEN, США) для извлечения геля. Далее, с использованием набора pGEM-T Easy kit (Promega, США), очищенные продукты ПЦР клонировали в вектор pGEM®-T Easy. Перед секвенированием дополнительно проводилась амплификация с использованием стандартных праймеров M13. Полученные продукты ПЦР анализировали с использованием электрофореза в 1 % агарозном геле и очищали с помощью набора для извлечения геля QIAquick (QIAGEN, США).

Личный вклад автора в исследование:

Автором лично выполнены все экспериментальные исследования, получение цифровых изображений и статистическая обработка данных по

проверке гипотез наследования признаков, а также созданию, аннотированию и тестированию цифровой коллекции колосьев пшеницы. Проведение молекулярных исследований выполнено совместно с к.б.н. А.Г. Блиновым и к.б.н. В.Ю. Вавиловой. Биоинформатическая обработка результатов выполнена совместно с д.б.н. Д.А. Афонниковым, к.б.н. Е.Г. Комышевым и к.б.н. М.А. Генаевым. Обработка цифровых изображений выполнена совместно с к.б.н. В.С. Ковалем.

Апробация результатов:

Материалы, положенные в основу диссертации, были представлены и обсуждены на 12-й Международной мультikonференции «Биоинформатика геномной регуляции и структурной/системной биологии – BGRS/SB» (Новосибирск, 2020), на V (XIII) Международной ботанической конференции молодых учёных в Санкт-Петербурге (Санкт-Петербург, 2022), на VII Международной научной конференции «Генетика, Геномика, Биоинформатика и Биотехнология растений (PlantGen 2023)» (Казань, 2023), на 7-й Международной конференции, посвящённой 95-летию академика РАН П.Л. Гончарова «Генофонд и селекция растений»(GPB 2024) (Новосибирск, 2024).

Публикации:

1. **Кручинина Ю.В.** Систематика рода *Triticum* L.: история изучения и вектор развития. / Ю. В. Кручинина // Письма в Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2023. – Т. 9. - № 3. – С. 162-171. - DOI: 10.18699/LettersVJ-2023-9-18
2. Artemenko N.V. Image-based classification of wheat spikes by glume pubescence using convolutional neural networks. / N.V. Artemenko, M.A. Genaev, R.UI. Epifanov, E.G. Komyshev, **Y.V. Kruchinina**, V.S. Koval, N.P. Goncharov, D.A. Afonnikov // Front. Plant Sci. – 2024. - DOI: 10.3389/fpls.2023.1336192 (Q1)

3. Смоленская С.Э. Скороспелость и морфотип сортов мягкой пшеницы Западной и Восточной Сибири / С.Э. Смоленская, В.М. Ефимов, **Ю.В. Кручинина**, Б.Ф. Немцев, Г.Ю. Чепурнов, Е.С. Овчинникова, И.А. Белан, Е.В. Зуев, В.В. Пискарев // Вавиловский журнал генетики и селекции. — 2022. — Т. 26. - № 7. — С. 662-674. - DOI: 10.18699/VJGB-22-81
4. Vavilova V.Yu. Genetic Variability of *Btr1* Genes In Tetraploid Wheat Species and *Aegilops speltoides* Tausch. / V.Yu. Vavilova, I. Konopatskaia, A. Blinov, E.Ya. Kondratenko, **Y.V. Kruchinina**, N.P. Goncharov // Russian journal of genetics. — 2022. — Vol. 58. - № 6. — P. 684-697. - DOI: 10.1134/S1022795422060138
5. Пронозин А.Ю. Автоматическое фенотипирование морфологии колоса тетра- и гексаплоидных видов пшеницы методами компьютерного зрения / А.Ю. Пронозин, А.А. Паулиш, Е.А. Заварзин, А.Ю. Приходько, Н.М. Прохошин, **Ю.В. Кручинина**, Н.П. Гончаров, Е.Г. Комышев, М.А. Генаев // Вавиловский журнал генетики и селекции. — 2021. — Т. 25. - № 1. — С. 71-81. - DOI: 10.18699/VJ21.009
6. Vavilova V. Genetic variability of spelt factor gene in *Triticum* and *Aegilops* species / V. Vavilova, I. Konopatskaia, A.G. Blinov, E.Ya. Kondratenko, **Yu.V. Kruchinina**, N.P. Goncharov // BMC Plant Biol. — 2020. — № 20. — P. 310. - DOI: 10.1186/S12870-020-02536-8 (Q1)
7. Genaev M.F. Morphometry of the wheat spike by analyzing 2D images / M.F. Genaev, E.G. Komyshev, **Y.V. Kruchinina**, N.P. Goncharov, D.A. Afonnikov, N.V. Smirnov // Agronomy. — 2019. — № 7. — P. 390. - DOI 10.3390/agronomy9070390 (Q1)

Конференции

1. Komyshev E. Spikes morphometric characteristics analysis of five species of wheat / E. Komyshev, **Yu. Kruchinina**, M. Genaev, V. Koval, D. Afonnikov, N. Goncharov // Bioinformatics of genome regulation and structure/systems biology (BGRS/Sb-2020): The Twelfth International Multiconference Abstracts,

Novosibirsk, 06–10 июля 2020 года. – Novosibirsk: Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, 2020. – P. 324. DOI: 10.18699/BGRS/SB-2020-203

2. **Кручинина Ю.В.** Наследование таксономически значимых признаков и скороспелости у ди-, тетра- и гексаплоидных видов пшениц / Ю.В. Кручинина, Г.Ю. Чепурнов // Материалы V (XIII) Международной ботанической конференции молодых учёных в Санкт-Петербурге: Сборник тезисов конференции, Санкт-Петербург, 25–29 апреля 2022 года. – Санкт-Петербург: Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, 2022. – С. 145-146.

3. Artemenko N.V. Glume pubescence classification of wheat using computer vision techniques / N.V. Artemenko, M.A. Genaev, **Y.V. Kruchinina** // The 7th International Scientific Conference (July 10–15, 2023, Kazan, Russia). – Kazan: FEN, 2023. – P. 52. DOI: 10.18699/PlantGen2023-07

4. **Kruchinina Y.V.** Study of species-specific traits and earliness in wheat of different levels of ploidy // The 7th International Scientific Conference (July 10–15, 2023, Kazan, Russia). – Kazan: FEN, 2023. – P. 217.

5. **Кручинина Ю.В.** Изучение наследования классификационных признаков и скороспелости у пшениц // Генофонд и селекция растений: Материалы 7-й Международной конференции «Генофонд и селекция растений», посвященной 95-летию академика РАН П.Л. Гончарова (Новосибирск, Россия, 10–12 апреля 2024 г.) – Новосибирск: ИЦИГ СО РАН, 2024. – С.175-179. DOI: 10.18699/GPB2024-45

Объём и структура диссертации:

Диссертация включает введение, обзор литературы, разделы, описывающие материалы и методы исследований, результаты, обсуждение результатов, выводы и список цитируемой литературы. Работа изложена на

154 страницах, содержит 24 рисунка и 25 таблиц. Библиографический указатель включает 136 источников литературы.

Благодарности:

Автор выражает особую благодарность научному руководителю д.б.н., академику Гончарову Николаю Петровичу, коллективам сектора генетики пшениц, тепличного комплекса и селекционно-генетического комплексов ИЦиГ СО РАН за доступ к оборудованию и помощь по уходу за растительным материалом.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Архитектура и архитектоника растений

Под термином «архитектоника растений» в прошлом веке обозначали закономерности пространственного расположения механических (арматурных) тканей растения в сочетании со строением и свойствами тканей и клеток функционального назначения, которое реализуется в их эффективном противодействии механическим нагрузкам [11; 12]. Исторические корни архитектоники растений как науки связаны с учением Швенденера о «Механическом принципе в анатомическом строении растений» (1874). С его работ началось изучение структур, которые придают ему прочность, а также устройстве и расположении этих структур [13].

В последнее время в связи с широким использованием термина «архитектура» растений [14; 15], ДНК [3; 16] и пр., термин «архитектоника» используется для описания более мелких деталей структуры растений [17; 18], а не только анатомического строения растений. Термин «архитектура» связана с общим строением растения, детали строения отдельных органов – «архитектоника». Например, архитектура колоса – это «поникий», «прямостоячий» и т.д., в то время как архитектоника – это «веретеновидный», «компактный» и т.д.

В конце XX – начале XXI века изучение архитектоники продолжается, однако, с большим уклоном на ботанические особенности растения, раскрывающие его фенотипические особенности [19]. Термин «фенетика» занят и исследователи остановились на термине «архитектоника», который в отличие от термина «архитектуры» (общее строение) описывает детали. В работах М.А. Фесенко [17] и В.А. Чернухина [20] подробно описывается анализ архитектоники гречихи, а именно методика описания листовой системы растений и соцветий. В ходе исследований были предложены

основные морфобиотипы гречихи для различных климатических зон, а также выделены формы с измененной архитектоникой листовой системы Мелколистная 781 и Мелколистная 199 и изучены их морфобиологические особенности [17]. В качестве форм с измененной архитектоникой в селекционном питомнике представлены: формы с крупными полуголовчатыми и головчатыми соцветиями, детерминантные формы с 8-13 кистями, детерминантные формы со сближенными на верхушке кистями (по 4-6) и др. По итогам проделанной работы, выведены и описаны селекционные и коллекционные образцы с различными типами соцветий [20].

В ряде исследований установлено, что архитектоника растений тесно связана с урожайностью [21; 22]. Известно, что у пшениц перечень генов, определяющих отличия в архитектонике колоса, невелик [23]. Большая часть из них применяется как в селекции злаков (*Gramineae* Juss.) [22], так и в таксономии [24].

Очевидно, что морфологические признаки любого таксона (в т.ч. существенные для их выделения – таксономически значимые) присущи всем особям. Они являются внешним, структурным, т. е. и микро-, и макроморфологическим отражением генетического своеобразия данного таксона. Предполагается, что генотип любой природной расы (вида) определяет наследственное фенотипическое сходство между представителями любого таксона, незначительно изменяющееся от поколения к поколению.

Один из путей расширения представлений о биоразнообразии возделываемых пшениц - накопление информации по архитектуре и архитектонике у видов злаков. Существует возможность переноса генов-гомологов (ортологов) посредством молекулярно-биологических подходов из них в пшеницу. Исходя из этого, видится перспективным изучение генетического контроля архитектоники вегетативных и генеративных органов злаков, в связи с тем, что данные злаки являются в большей степени изученными злаками Старого Света [25].

1.2. Архитектоника и таксономия пшеницы

Появление в последние десятилетия новых методов исследования позволяет значительно углубить объём информации о структуре видов, а также служит толчком к активному пересмотру систематики покрытосеменных растений [26].

Изучение таксономии с использованием молекулярно-биологических методов значительно возрастает, что связано с одной стороны с их применением в филогенетике, с другой - с тем фактом, что объём знаний, полученный молекулярными методами в ближайшее время превысит «немолекулярные» данные. Установление филогенетических взаимоотношений, а также проведение временных оценок дивергенции таксонов рода *Triticum* L. в настоящее время, стало возможным, благодаря информации об эволюции различных нуклеотидных последовательностей [27]. Молекулярные данные требуют формирование собственного языка для изложения результатов с более адаптированными таксономией и мерономией. Цитологические методы также используются для этой цели. Один из основных - флуоресцентная *in situ* гибридизация (FISH) [28].

Формирование современной таксономии невозможно без филогенетической (кладистической) системы, которая в качестве подхода в «новейшую» систематику («системную биологию») включает молекулярную филогенетику [29]. Возрастающая ясность, сопутствующая процессу, даст возможность в ближнем будущем объективно относить рандомизированный, не изученный объект к определённой группе – «кладе». Одно из значимых свойств таксономии - стабильность - будет достигнуто филогенетической системой с большей вероятностью путём расширения перечня таксонов, установленных «раз и навсегда». С применением средств телекоммуникации и электронных баз данных (БД) нивелируются такие признаки кладистической системы, которые на данный момент кажутся её недостатками, а именно:

обширное число рангов, неосуществимость рациональной системы, а также проблема с разработкой богатых диагнозов. Зачатками новой мерономии являются пространственные структуры (фолды), международные классификации и БД консервативных доменов, семейства белков, классы мРНК, интроны группы I и т. п. [30].

Принято считать, что любой вид характеризуется определёнными внутривидовыми различиями (полиморфизмом) и обладает своей генетической конституцией, что проявляется, в т.ч. в наличии репродуктивных барьеров. Однако для многих видов пшеницы эти барьеры не являются видовой характеристикой. Было показано, что в условиях эксперимента, многие виды пшеницы одного уровня плоидности скрещиваются между собой без затруднений и дают фертильное потомство, несмотря на то, что пшеница - строгий самоопылитель [31]. Правда, следует отметить, что в настоящее время виды пшениц нигде не высевают в смеси; помимо этого, виды имеют неперекрывающиеся ареалы. Таким образом у видов пшеницы в естественных условиях и в условиях возделывания нет возможности обмена генофондами.

В значительной части работ, посвященных эволюции и таксономии пшениц, приводится рассмотрение и оценка важных биохимических и морфологических признаков, важных для сельского хозяйства [32].

В наиболее широко используемой системе, род *Triticum* L. включает в себя 29 видов [27]. В свою очередь виды, несущие комбинации четырёх геномов А, В, G и D делятся на секции, изредка на подроды (см. таблицу 1) [33]. К настоящему моменту выявлено дифилитическое происхождение пшениц [31].

Таблица 1. Система рода *Triticum* L [27].

Секция	Группа видов	Вид	2n	Геном (гаплоидный)
<i>Monococcon</i> Dum.	Однозернянки	<i>T. urartu</i> Thum. ex Gandil.	14	A ^u
		<i>T. boeoticum</i> Boiss.	14	A ^b
		<i>T. monococcum</i> L.	14	A ^b
		<i>T. sinskajae</i> A. Filat. et Kurk.	14	A ^b
<i>Dicoccosides</i> Flaksb.	Полбы	<i>T. dicoccoides</i> (Körn. ex Aschers. Et Graebn.) Schweinf.	28	BA ^u
		<i>T. dicoccum</i> (Schränk) Schuebl.	28	BA ^u
		<i>T. karamyshevii</i> Nevski	28	BA ^u
		<i>T. ispahanicum</i> Heslot	28	BA ^u
	Голозерные тетраплоиды	<i>T. turgidum</i> L.	28	BA ^u
		<i>T. durum</i> Desf.	28	BA ^u
		<i>T. turanicum</i> Jakubz.	28	BA ^u
		<i>T. polonicum</i> L.	28	BA ^u
		<i>T. aethiopicum</i> Jakubz.	28	BA ^u
		<i>T. carthlicum</i> Nevski	28	BA ^u
<i>Triticum</i>	Спельты	<i>T. macha</i> Dek. et Men.	42	BA ^u D
		<i>T. spelta</i> L.	42	BA ^u D
		ssp. <i>tibetanum</i> (Shao) N.P. Gontsch.	42	BA ^u D
		ssp. <i>yunnanense</i> (King ex S.L. Chen) N.P. Gontsch.	42	BA ^u D
		<i>T. vavilovii</i> Jakubz.	42	BA ^u D
	Голозёрные гексаплоиды	<i>T. compactum</i> Host	42	BA ^u D
		<i>T. aestivum</i> L.	42	BA ^u D
		ssp. <i>aestivum</i>	42	BA ^u D
		ssp. <i>hadropyrum</i> (Flaksb.) Tzvel.	42	BA ^u D
		ssp. <i>petropavlovskyi</i> (Udacz. et Migusch.) N.P. Gontsch.	42	BA ^u D
		<i>T. sphaerococcum</i> Perciv.	42	BA ^u D
		<i>T. dimococcum</i> Scheiman et Staudt	42	BA ^u A ^b
<i>Timopheevii</i> A. Filat. Et Dorof.	Полбы	<i>T. araraticum</i> Jakubz.	28	GA ^u
		<i>T. timopheevii</i> (Zhuk.) Zhuk.	28	GA ^u
		ssp. <i>militinae</i> (Zhuk. Et Migusch.) Valdes & H. Scholz	28	GA ^t
<i>Compositum</i> N.P. Gontsch.	Спельты	<i>T. zhukovskyi</i> Menabde et Erizjan	42	GA ^u A ^m
	Спельты	<i>T. palmovae</i> G. Ivanov (syn. <i>T. erebuni</i> Gandil.)	28	DA ^b (DA ^u)
		<i>T. kiharae</i> Dorof. et Migusch.	42	GA ^u D
		<i>T. sovieticum</i> Zhebrak	56	BA ^u GA
		ssp. <i>fungicidum</i> (Zhuk.) N.P. Gontsch.	56	BA ^u GA
		<i>T. borisovii</i> Zhebrak	70	BA ^u DGA
	Голозёрный октоплоид	<i>T. flaksbergeri</i> Navr.	56	GA ^u BA ^u

Используя данные сравнительно-генетического анализа, а также хлоропластные и ядерные маркеры, современная таксономия позволяет установить филогенетические взаимоотношения видов родов *Aegilops* L. и *Triticum* L. [34]. Благодаря анализу хлоропластного генома, получилось установить родство пшеницы и эгилопса по материнской линии, а также стало возможным изучать их независимо от их уровня пloidности [35]. С помощью молекулярно-биологических анализов стало ясно, что геном *Aegilops speltoides* Tausch - в большей степени близок помимо G-генома, ещё и к B-геному тетра- и гексаплоидных видов пшениц [26]. Цитоплазма *Ae. speltoides*, имеющая, вероятно, две «модификации», значительно отличалась от таковой как от диплоидных пшениц, так и от других видов секции *Sitopsis* (Jaub. et Spach.) Zhuk. рода *Aegilops*, к которой относится *Ae. speltoides*. Благодаря полученным результатам, можно сделать вывод о родстве между диплоидными пшеницами рода *Triticum*, указав их отличие от диплоидных видов рода *Aegilops* L.

Анализ нуклеотидных последовательностей ряда генов позволил подтвердить факт наличия двух видов геномов типа A: A^u (донор генома *T. urartu*) и A^b (донор — *T. boeoticum*) [35]. Очевидно, что оба варианта обособились в природе ещё до начала культивирования человеком диплоидных пшениц. Согласно последним исследованиям, известно, что у современных возделываемых видов пшениц есть три набора геномов, исторически доставшихся ей от двух видов: пшеницы и эгилопса. Если от первого предка современная пшеница получила лишь геном A, то от эгилопса в эволюционном плане, современная пшеница получила не только геномы B и G, но также и цитоплазму. Примечательно, что данные спонтанные скрещивания, произошедшие несколько тысяч лет назад, не только привели к такому результату смешения геномов дикой диплоидной пшеницы и эгилопса, но и стали основой для тетраплоидных и гексаплоидных видов пшениц (рисунок 1).

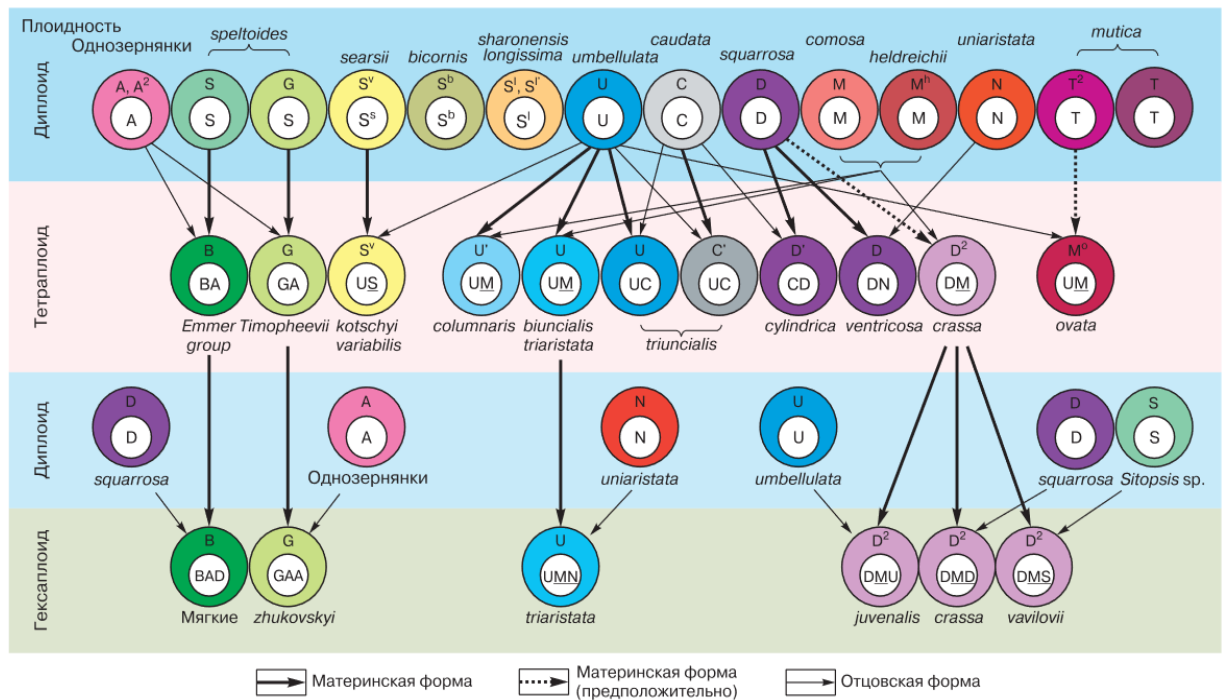


Рисунок 1. Филогенетические связи между пшеницами разного уровня плоидности и эгилопсами на основе их геномов и плазмонов. Рисунок на основе иллюстрации из работы [34].

Используемая исследователями схема (рисунок 1) происхождения полиплоидных видов имеет ряд ещё не решенных вопросов: нет информации о тетраплоидном виде – материнской форме для первичного аллогексаплоида, а также нет чёткости со временем происхождения диких тетраплоидных пшениц и доместикации возделываемых видов тетра- и гексаплоидных пшениц. Немаловажным является и тот факт, что и «дикие» гексаплоидные виды пшениц, и дикие голозерные (с легким обмолотом) тетраплоидные виды в природе не обнаружены. [24]. В то же время трудно представить, что эволюция культурных видов пшениц происходила исключительно посредством увеличения элементарных наборов геномов, т. е. полиплоидии. Для реконструкции процессов, лежащих в основе происхождения пшениц, требуется объединение данных филогенетического анализа и результатов исследований признаков, вовлеченных в доместикацию, методами молекулярной биологии и сравнительной генетики. Развитие актуального подхода к изучению доместикации пшеницы должно идти от построения

молекулярной филогении к реконструкции процессов domestikации, а не наоборот. Такой подход будет верным: он даст возможность выйти за рамки системы взглядов на реконструкцию процессов эволюции возделываемых растений.

1.3. Влияние domestikации на архитектуру пшеницы

Процесс domestikации оказал большое влияние на изменение архитектуры и свойств диких видов пшениц. Ключевую роль в этом процессе сыграл отбор по признакам, которые позволили проводить успешное возделывание растений пшеницы на обширных площадях, а именно: яровой тип развития, голозёрность и отсутствие ломкоколосости [36]. В настоящее время известно, что в контроле таксономически важных (видообразующих) признаков колоса у пшеницы участвуют как минимум пять различных генов [37]. Один из них ген спельтоидности *Q*, который отвечает за обмолачиваемость, ломкость стержня и форму колоса, другой ген, отвечающий за неломкий стержень, это ген *Btr1*. Кроме того, ген жёсткой колосковой чешуи *Tg* – обмолачиваемость и ломкость стержня колоса, а также ген мягкой колосковой чешуи (*sog* – обмолачиваемость) и ген, контролирующий компактную форму колоса (*C* – компактный колос) [38-46]. Важно отметить, что ген *Q*, расположенный на длинном плече хромосомы 5А, является одним из ключевых генов, вовлеченных в процесс domestikации. Он имеет плеiotропное действие и отвечает за многие хозяйственно важные признаки пшениц, такие как: высота растения, длина стержня колоса, форма колоса, наличие/отсутствие ломкости колоса, голозерность/пленчатость, форма и жесткость колосковой чешуи и др. [23; 38; 47].

По причине того, что ген *Q* контролирует названные выше признаки, он играет ведущую роль в широком распространении голозёрных видов в культуре (*Triticum durum* - твёрдая пшеница, *T. aestivum* - мягкая пшеница), в отличии от плёнчатых видов, которые в настоящее время возделывают реже

(*T. spelta* - спельта, *T. dicoccum* (syn. *T. turgidum* ssp. *dicoccum* (Schrank) Schuebl.) - полба, а также *T. tibetanum* (Shao) N.P. Gontsch. и *T. yunnanense*) [48-52]. Однако актуальность возделывания плёчатых видов в последнее время активно растёт, в связи с тем, что с их помощью получают продукты функционального питания [53]. Помимо прочего, создание селекционерами голозёрных аналогов плёчатых видов, запутывает [54] и так непростую таксономию плёчатых видов пшениц [51; 55].

Благодаря современным методам молекулярной биологии, удалось отнести ген *Q* к AP2-подобным факторам транскрипции, с последующим описанием двух функциональных аллелей *Q-5A* и *q-5A* [38].

Большинство культурных видов пшеницы легко обмолачиваются, имеют нормальный (или компактный) колос с неломким стержнем колоса и несут аллель *Q-5A*. В то время, как дикие пшеницы характеризуются труднообмолачиваемыми хрупкими спельтоидными колосьями и несут аллель *q-5A* [38; 39; 56]. Для аллелей *Q* и *q* было описано два однонуклеотидных полиморфизма. Один из них – это несинонимичная замена валина на изолейцин, которая связана с изменением гуанина на цитозин в восьмом экзоне вблизи домена AP2. Вторая же замена является нейтральной в сайте связывания miRNA172 в десятом экзоне, в рамках которой происходит изменение цитозинового основания на тиминовое [38–41; 57].

Важно отметить, что ген *Q* может располагаться и на других участках хромосомы. Известно, что *q-5B* представляет собой псевдоген, а *q-5D*, например, экспрессируется слабее, по сравнению с *Q-5A*, но, при этом, они оба способствуют подавлению образования спельтоидных колосьев [38]. Стоит заметить, что в последних работах по молекулярной биологии был идентифицирован новый аллель *q'-5D* с точечной мутацией в сайте связывания miRNA172 [58].

В статье Vavilova et al. [33] было проведено полное исследование нуклеотидных последовательностей гена Q-5A у диплоидных и гексаплоидных видов пшениц. Полученные данные, по результатам исследования, сравнивали с уже известными аллелями Q и q видов пшеницы из мировой базы GenBank. По результатам сравнительного и филогенетического анализа было показано, что все диплоидные образцы пшеницы и образцы *T. macha* с хрупкими и легкообмолачивающимися спельтоидными колосьями имели аллель 5Aq, который является идентичным таковому *T. dicoccum* (AY714343) (рисунок 2). Хотя последовательности гена Q-5A из двух образцов пшеницы – *T. aestivum* ssp. *petropavlovskyi* с легкообмолачивающимися не хрупкими колосьями, очень похожими на спельту, были идентичны аллелю Q-5A из *T. aestivum* cv. Renan (JF701614). Также было показано, что аллель q *T. spelta* (AY714341) был определен в образцах *T. spelta* ssp. *yunnanense*, которые характеризовались труднообмолачивающимися, хрупкими, спельтоидными колосьями.

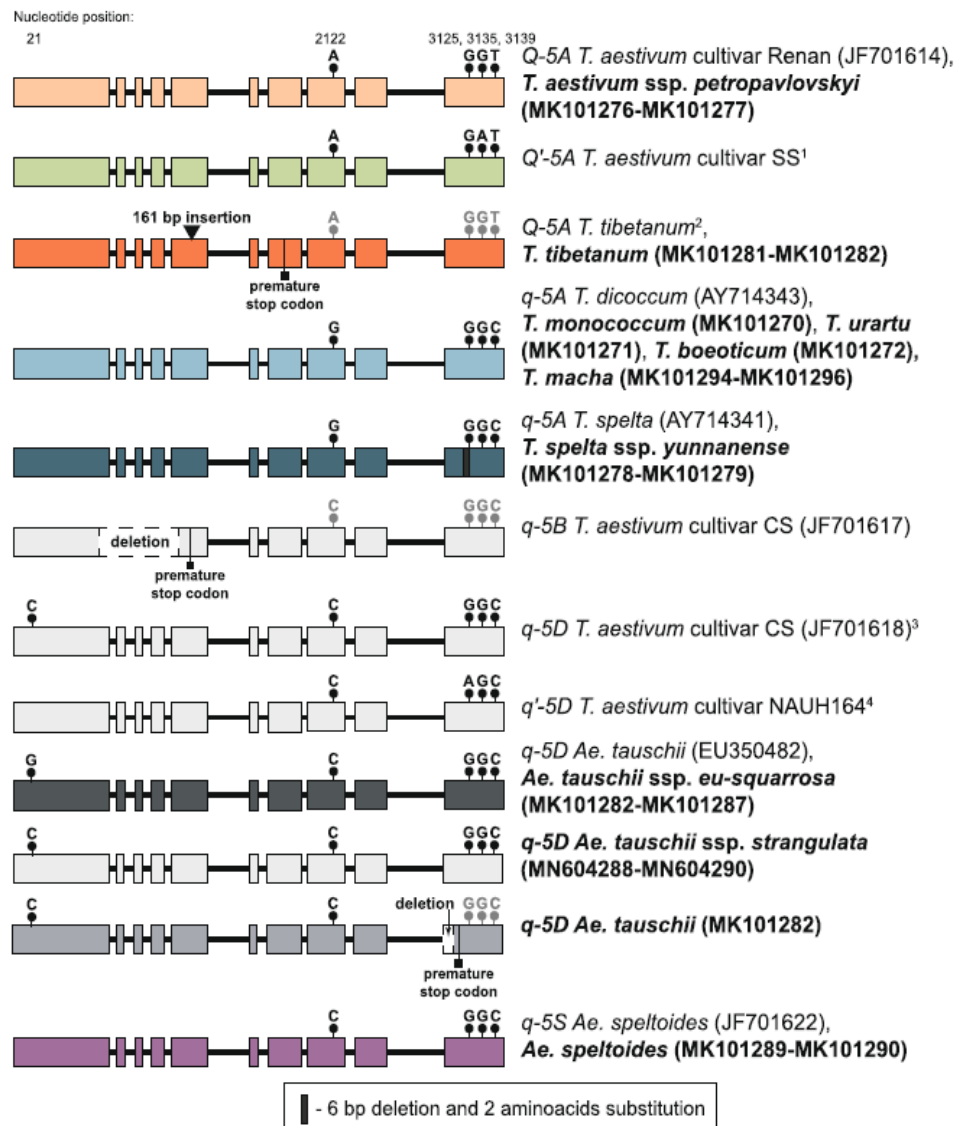


Рисунок 2. Схема изменчивости аллелей гена *Q* у различных видов *Triticum* и *Aegilops*. Рисунок на основе иллюстрации из работы [33].

Примечание. В круглых скобках указаны идентификаторы AC (ACCESSION) записей базы данных GenBank (NCBI Nucleotide) с известными последовательностями ДНК гена *Q* у различных видов пшеницы. Номера нуклеотидов выше от начального кодона приведены в соответствии с последовательностью *Q*-5A для *T. aestivum* (JF701619). Разные аллели генома *A* отмечены разными цветами. Вставка обозначена черным треугольником. Однонуклеотидные полиморфизмы обозначены черными кружками. [1] - Аллель *Q*'-5A был описан Greenwood et al. (2017); [2] - аллель *Q*' был описан в настоящем исследовании параллельно с исследованием Jiang et al. (2019); [3] - и *T. macha* (MK101294-MK101296), *T. tibetanum* (MK101301-MK101302), *T. spelta* ssp. *yunnanense* (MK101299-MK101230), *T. vavilovii* (MK101291-MK101293), *T. aestivum* ssp. *petropavlovskiy* (MK101297-MK101298); [4] - Аллель *q*'-5D был описан Zhao et al. (2018)

Новый аллель гена *Q-5a* был описан для *T. tibetanum* (KU510 и KU515) (рисунок 2). Аллель был подобен *Q*-аллелю *T. aestivum* cv. Chinese Spring, исключая вставку полинуклеотидный участок длиной в 161 полинуклеотид в 5-ом экзоне (рисунок 2). Именно это привело к сдвигу считывающей рамки и преждевременному образованию стоп-кодона. Jiang et al. (2019) описали этот аллель для образцов *T. tibetanum* и обозначили его как Q^t . При этом вставка транспозона привела к повторному приобретению дикого признака (хрупких колосьев) у *T. tibetanum* [59].

В работе не было получено положительных результатов при ПЦР-амплификации *Q-5A* в проанализированных образцах *T. vavilovii*. Сравнительный и филогенетический анализ подтвердил, что изученные образцы *T. vavilovii* обладают аллелем гена *q-5D*, идентичным аллелю *T. aestivum* cv. Chinese Spring.

1.4. Фенотипирование

1.4.1. Фенотипирование в селекции и генетике

Происхождение современных культивируемых полиплоидных видов пшеницы представляет собой сложную и не до конца выясненную историю, которая включает в себя появление видов рода *Triticum*. Совместное использование биоинформатики и экспериментальных методов исследования обычно позволяет установить филогенетические взаимоотношения видов внутри различных таксонов. К сожалению, первые, известные нам, виды рода *Triticum* появились около 10 000 лет назад, поэтому все используемые молекулярные маркеры имеют минимальное количество нуклеотидных замен, что не позволяет однозначно установить филогенетические связи большинства известных видов рода в их полном объеме и представлении. Как известно, стандартные маркеры хлоропластов и митохондрий позволяют

определить лишь филогению геномов А, В, D и G, но выявить филогенетические взаимосвязи этих видов – нет [32; 60].

При проведении исследовательской работы в селекции, генетике и ботанике, зачастую проводится фенотипирование образцов растений, а именно визуальная оценка различных параметров. Результаты такого фенотипирования имеют большое значение для систематики будущих растений, поскольку позволяют, наравне с результатами других методов, отнести растения к той или иной систематической группе. При выборе параметров, на основании которых будет проводиться фенотипирование, необходимо иметь в виду, что для каждого таксона они будут отличаться. Например, для пшеницы следует обращать внимание на форму зерновки [61], т.к. помимо того, что она является важным селекционным признаком, она ещё и определяет выход муки (наравне с размером и выравненностью зерна), что обуславливает рыночную стоимость зерна [27]. Различия в форме колоса (рисунок 3) у гексаплоидных видов пшениц и идентификация генов, контролирующих форму колоса позволяют легко различать эти виды между собой.

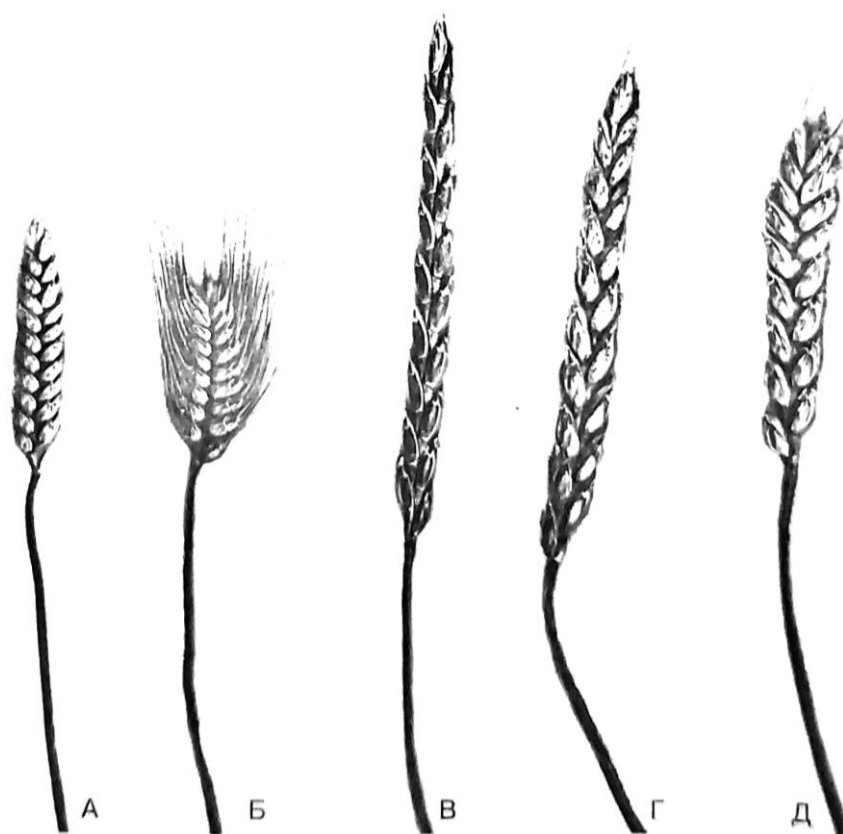


Рисунок 3. Форма колоса гексаплоидных видов пшениц. Рисунок на основе иллюстрации из работы [27].

Примечание. А – *T. sphaerococcum* (ss); Б – *T. compactum* (cc); В – *T. spelta* (qq); Г – *T. aestivum* (норма); Д – *T. aestivum* (скверхед)

Следует понимать, что в современных исследованиях при постановке эксперимента, процесс фенотипирования подразумевает визуальный анализ экспертом тысяч растений. С учётом количества признаков, которые будут оцениваться, становится очевидным, что это потребует колоссальных затрат времени. Поэтому автоматизация этого процесса является актуальной задачей для генетиков и селекционеров. Существует несколько путей, которые помогут повысить эффективность фенотипирования колосьев, а именно: создание БД и организация хранения в них информации, реализация технологий анализа цифровых изображений, а также внедрение алгоритмов машинного обучения для оценки полученной информации. Данные исследования широко применяются на различных сельскохозяйственных культурах. Морфометрия початков кукурузы с помощью анализа изображений была реализована в работе Makanza et. al. [62]. Разработанные авторами

программы позволили определить размеры початков, а также оценивать величину кукурузных зерен и их массу. Методы глубокого обучения были использованы в работе Round для подсчета колосьев на изображении и оценки числа колосков в колосе [63]. Морфометрия колоса пшеницы на основе анализа изображений были предложены в работе Vi et. al. [64]. В их работе на основе 2D изображений колоса оценивались такие характеристики колоса, как его длина, число и длины остей колоса, проводилась оценка типа (плотности) колоса по соотношению его длины и ширины. Параметры колосьев были использованы для классификации сортов с помощью нейронных сетей с обратным распространением ошибки (back propagation neural network).

Таким образом, основными характеристиками возделываемых злаковых культур является форма и структура колоса, которые тесно связаны с ключевыми хозяйственно ценными качествами - продуктивностью, отсутствием ломкости колоса и легкостью обмолота. Изучение генов, которые являются главными маркерами визуальных признаков, предполагает сбор и анализ большого количества морфометрических данных. Автоматизация этого процесса позволит сократить затраты времени на сбор и обработку экспериментальных данных, повысит ее качество, оптимизирует технологический процесс. Такие современные подходы позволяют детализировать систематику пшеницы, выводя ее на качественно новый уровень [65].

1.4.1.1. Гексаплоидные виды пшеницы $2n = 6x = 42$

Таблица 2. Описание гексаплоидных видов пшениц.

Вид	Геном	Ф-ла по видоспец. генам	Тип развития	Вид оспец. ген	Ботаническое описание	Доп. Инф-я
<i>T. aestivum</i> L.	BA ^u D	qq cc SS vv	озимый, яровой, двуручка	-	Подвиды: <i>T. petropavlovskyi</i> , <i>T. antiquorum</i>	Мягкая пшеница является основной хлебной и ведущей продовольственной культурой большого количества стран мира [66]. Она наиболее распространена по всему земному шару, очень пластична и включает в себя более 100 разновидностей. Делится на 2 подвида по морфолого-экологическим признакам: ирано-азиатский подвид, характеризующийся колосом грубого типа и индо-европейский с колосом более нежного типа.
<i>T. petropavlovskyi</i> Udacz. et Migusch.	BA ^u D	qq cc SS vv	яровой	-	Морфологически похож на <i>T. turanicum</i> , но гексаплоид [66]. Мощные, высокие растения (145-150 см). Полая под колосом соломина, несущая рыхлый колос. Колосковые чешуйки длинные, грубые, с небольшим килем, переходящим в остевидный отросток длиной 2,5 см.	-

Таблица 2. Описание гексаплоидных видов пшениц.

Вид	Геном	Ф-ла по видоспец. генам	Тип развития	Вид оспец. ген	Ботаническое описание	Доп. Инф-я
					Мягкие, тонкие, слегка зазубренные ости. Наружная цветковая чешуя длиннее внутренней. Зерновки овально-удлинённые, крупные, стекловидные [67].	
<i>T. antiquorum</i> Heer ex Udacz.	BA ^u D	<i>qq cc SS vv</i>	яровой	-	-	Считается, что это один из первых культивируемых человеком видов гексаплоидных пшениц [66].
<i>T. compactum</i> Host	BA ^u D	<i>qq CC SS vv</i>	озимый, полуозимый, яровой	<i>C</i> - компактоидность	Некоторые формы имеют неполегающую соломину. Т.к. длина колоса прыгает его ширину более, чем в 3-4 раза – колос очень плотный. Зерновки овальной формы, короткие, неплотно заключены в чешуи. Скороспелый [68].	Является полиморфным видом. Схож с мягкой пшеницей по некоторым морфологическим признакам, а отличен от неё коротким плотным колосом [66]. Компактоидность является видоспецифическим признаком для <i>T. compactum</i> . Ген <i>C</i> , обуславливающий компактность колоса – укорачивает ось колоса, уменьшает длину чешуй, длину и число зёрен в колосе. Ген <i>C</i> имеет дозовый эффект, наследуется по доминантному типу и локализован в хромосоме 2DL [27].
<i>T. spelta</i> L.	BA ^u D	<i>QQ cc SS vv</i>	озимый, яровой	<i>q</i> - спелто	Подвиды: <i>T. yunnanense</i> , <i>T. tibetanum</i>	Как примесь встречается в посевах мягкой пшеницы. Низкая урожайность семян [66].

Таблица 2. Описание гексаплоидных видов пшениц.

Вид	Геном	Ф-ла по видос пец. генам	Тип развития	Вид осп ец. ген	Ботаническое описание	Доп. Инф-я
				идн ость	Колосковый стержень ломкий. Умеренно жёсткие колосковые чешуи. Колосья не отрываются от соломины, грубые, жесткие, длинные, спельтоидные, рыхлые. Короткий зубец колосковой чешуи. Зерновки плотно заключены в чешуи. Зерна средней стекловидности. Пленчатость. Трудная вымолачиваемость [68].	<i>T. spelta</i> обладает способностью восстанавливать фертильность у стерильных аналогов <i>T. aestivum</i> при цитоплазме <i>T. timopheevii</i> [69]. За признак спельтоидности отвечает ген <i>q</i> , наследующийся по доминантному типу и локализованный в хромосоме 5AL [27].
<i>T. yunnanensis</i> King ex S.L. Chen	BA ^u D	QQ <i>cc</i> SS <i>vv</i>	яровой	-	Умеренно рыхлый колос. Характерно три и более зёрен на колосок [68].	-
<i>T. tibetanum</i> Shao	BA ^u D	QQ <i>cc</i> SS <i>vv</i>	яровой	-	Зерновки легко вымолачиваются [68].	-
<i>T. macha</i> Dek. et Men.	BA ^u D	QQ <i>CC</i> SS <i>vv</i>	озимый	-	Лицевая сторона колоса уже боковой в 1.5-2 раза. Характерны длинные густые волоски по рёбрам члеников колосового стержня. Плотный, легко отделяемый от соломины колос. Так же легко распадается на колоски [68]. Зерновки плотно заключены в колосковые чешуи. Большая листовая масса (для корма). Пленчатость.	<i>T. macha</i> является восстановителем фертильности у гибридных форм с цитоплазмой пшеницы <i>T. timopheevii</i> [69].

Таблица 2. Описание гексаплоидных видов пшениц.

Вид	Геном	Ф-ла по видоспец. генам	Тип развития	Вид оспец. ген	Ботаническое описание	Доп. Инф-я
					Трудная вымолачиваемость, позднеспелость [66].	
<i>T. vavilovii</i> Jakubz.	BA ^u D	QQ cc SS VV	озимый	V – ветвистость (по типу у <i>T. vavilovii</i>)	Обладает твёрдой соломиной. Облиственность слабая, листья кожистые. Для колосьев характерна ложная ветвистость, которая проявляется в том, что происходит удлинение цветоножек, а не дополнительное ветвление от членика стержня колоса (что характерно для истинной ветвистости). Сами колосья неломкие и грубые. В каждом колоске по две сильно одревесневших колосковых чешуи, которые плотно заключают в себя плёчатые зерновки [68].	Производственного значения не имеет [66]. Помимо ветвистости у тетраплоидного вида <i>T. turgidum</i> , похожий признак есть и гексаплоидного вида <i>T. vavilovii</i> . Однако тип ветвистости у этих двух видов различен, и до сих пор не удаётся интрогрессировать этот признак из тетраплоидных видов в гексаплоидные [27]. Ветвистость у <i>T. vavilovii</i> контролируется по доминантному типу геном V [27].
<i>T. sphaerococcum</i> Perciv.	BA ^u D	qq C ₂ C ₂ ss vv	яровой	s - круглость	Вид характеризуется вертикальным расположением листьев, скороспелостью и неосыпаемостью колосьев. Благодаря шаровидной форме зерновки, происходит значительное изменение соотношения выхода муки и отрубей [66].	Ген, контролирующий компактность у <i>T. sphaerococcum</i> не аллелен гену <i>C</i> <i>T. compactum</i> , поэтому при описании он обозначен как C ₂ [27].

Таблица 2. Описание гексаплоидных видов пшениц.

Вид	Геном	Ф-ла по видоспец. генам	Тип развития	Вид оспец. ген	Ботаническое описание	Доп. Инф-я
					Имеет короткую, трудно сгибаемую жёсткую соломину. Листья жёсткие, короткие, не поникают. Округлая форма колосковой чешуи и заключенной в ней зерновки. Плотный колос, чаще квадратный в поперечном разрезе. Некоторые образцы имеют стекловидное зерно [68].	Видоспецифический признак круглозёрности у <i>T. sphaerococcum</i> контролируется по рецессивному типу геном s, локализованном в хромосоме 3D [27].

1.4.1.2. Тетраплоидные виды пшеницы $2n = 4x = 28$

Весьма важным аспектом по развитию систематики следует считать создание коллекций растений пшеницы. К примеру, мировая коллекция ВИР располагает более чем 6 тысячами образцами твёрдой пшеницы из всех регионов произрастания и происхождения этой культуры. Важной задачей при работе с *ex situ* коллекцией, является задача сохранения истинности или подлинности образцов, которые в ней содержатся. К слову, вид *T. durum* Desf. отличается довольно широким внутривидовым разнообразием. Для того, чтобы не произошло путаницы среди образцов, после восстановления всхожести и их размножения, важно правильно распределить образцы по разновидностям, используя информацию о морфологических признаках колоса и зерновки. Это позволяет систематизировать образцы относительно одной из разновидностей, а это даёт возможность контролировать подлинность образца и сохранять идентичность коллекции.

Таблица 3. Описание тетраплоидных видов пшениц.

Вид	Геном	Ф-ла по видоспец. генам	Тип разв-я	Видо спец. ген	Биологическое описание	Доп. Инф-я
<i>T. dicoccoides</i> (Körn. ex Aschers. et Graebn.) Schweinf.	BA ^u	$Q^bQ^b TaTa p1p1 BhBh$	В основном озимый, реже яровой	q^b - спельтоидность	Варьирует от почти культурных, крупных, прямостоячих форм с широкой листовой пластинкой, до диких, полустелющихся форм [66]. Плотность колоса: 9-18. Колосья от ветвистых до нормальных; средние или крупные. Характерна ломкость колоса (при наступлении стадии зрелости, колосья распадаются на колоски), а также трудная вымолачиваемость. Колосковые чешуи грубые, крыловидные, длинные. Зерновки удлинённо-овальные, плёчатые. Ости длинные, толстые, очень зазубренные. Членики оси колосьев покрыты длинными волосками по всей длине боковых рёбер. Характерной особенностью вида является наличие бородки из мягких коротких волосков у основания колоска [68].	Н. Tsujimoto выделил у вида <i>T. dicoccoides</i> аллель гена q^b, контролирующей спельтоидную форму колоса [70]. Simons K. J. et al. при проведении гибридологического анализа обратили внимание, что гены, являющиеся ответственными за проявление признака «спельтоидность» у тетраплоидного вида <i>T. dicoccoides</i> и гексаплоидного вида <i>T. spelta</i> не аллельны. В то же время, последовательность гена <i>Q</i> у обоих имеет в 329-й позиции аминокислоту Val,

Таблица 3. Описание тетраплоидных видов пшениц.

Вид	Геном	Ф-ла по видоспец. генам	Тип разв-я	Видо спец. ген	Биологическое описание	Доп. Инф-я
						замена которой приводит к появлению нормального колоса у мягкой пшеницы и увеличению экспрессии гена Q [71].
<i>T. timopheevii</i> (Zhuk.) Zhuk.	GA ^u	QQ TaTa p1p1 BhBh	яровой	-	Плотность колоса: 30-54. Колосья ветвистые или нормальные. Колос плотный, плоский, не спельтоидный, опушённый, имеет мягкие ости. Колосья отличаются слегка пирамидальной формой - недлинные по сравнению с шириной. Цветковые чешуи имеют ости. Стержень колоса подвержен ломкости и варьирует от практически ровного до слегка зигзагообразного. По боковым рёбрам на члениках оси колоса присутствует полоска волосков с относительно узкой шириной (0.2-0.3 мм). Колосковые чешуи удлинённой формы, жёсткие, крыловидные, с невыступающим килем, который переходит в острый зубец треугольной формы на вершине. На колосковой чешуе имеется сильно развитый боковой нерв, который своим выступом образует ещё один небольшой зубец. Между ними – выемка с острыми углами (синус). Зерновка средняя по размеру, узкая, удлинённая, красная,	Вид обнаружен П.М. Жуковским в Западной Грузии, где выращивался в смеси с <i>T. monosocum</i> . Является эндемичным для Закавказья. Ныне не возделывается [66]. При межвидовой гибридизации вызывает цитоплазматическую мужскую стерильность (ЦМС). Имеет гены <i>Rf</i> , которые восстанавливают фертильность пыльцы при ЦМС. Так же вид отличается позднеспелостью и

Таблица 3. Описание тетраплоидных видов пшениц.

Вид	Геном	Ф-ла по видоспец. генам	Тип разв-я	Видо спец. ген	Биологическое описание	Доп. Инф-я
					плотно заключена в чешую. Трудная вымолачиваемость [68].	слабой засухоустойчивостью [66].
<i>T. durum</i> Desf.	BA ^u	<i>qq TaTa p1p1 BhBh</i>	яровой, реже полуозимый и озимый	-	Плотность колоса: 16-50. Твёрдая пшеница отличается прямостоячим кустом, выполненной, по большей части, соломиной, неопушёнными листьями. Колос неплотный, не спельтоидный. Колоски имеют от 2 и более зёрен на колосок. В зрелом состоянии колосья не распадаются на колоски. Членики стержня колоса 2.5-5 см. Колосья длиной 4-13 см и более, часто ветвистые, рыхлые или плотные. Колосковые чешуи кожистые, удлинённой формы (8-15мм), меньше чем в 1.5 раза короче цветковых чешуй, прилегающих к ним, также колосковые чешуи имеют сильно выступающий киль по всей своей длине. Зерновка стекловидная, удлинённая. Ости колосья имеют только на цветковых чешуях или являются безостыми. На нижней цветковой чешуе ость спонтанно не обламывается у основания [68].	Вид занимает второе место в мире по посевным площадям и имеет неоспоримое производственное значение [66]. Твёрдую пшеницу можно отличить от <i>T. turgidum</i> по нескольким морфологическим признакам, а именно: более прочное прикрепление остей и менее резко выступающий главный боковой нерв колосковой чешуи. Основное морфологическое отличие от мягкой пшеницы (<i>T. aestivum</i>) - отсутствие

Таблица 3. Описание тетраплоидных видов пшениц.

Вид	Геном	Ф-ла по видоспец. генам	Тип разв-я	Видо спец. ген	Биологическое описание	Доп. Инф-я
						вдавленности у основания колосковой чешуи [66].
<i>T. aethiopicum</i> Jakubz.	BA ^u	<i>qq TaTa p1p1 BhBh</i>	яровой	-	Плотность колоса: 12-17. Соломина под колосом сплошь заполнена сердцевинной или имеет небольшой просвет в центре. В колеоптиле имеется 4-6 сосудистых пучков. Колосья бывают нормальные или ветвистые. Колос стандартно мелкий, неплотный, не спельтоидный и в зрелом состоянии не распадается на колоски. Членики стержня колоса 2-3 мм. Для колосьев характерно наличие двух и более зёрен на колосок. Ости можно видеть только на цветковых чешуях, в противном случае колос безостый. Колосковые чешуи не имеют поперечной вдавленности в своем основании, однако имеют сильно выступающий киль, но только в верхней половине, реже можно видеть киль по всей длине колосковой чешуи. Помимо этого, на конце колосковой чешуи обычно присутствует один хорошо развитый зубец, иногда переходящий в короткую ость по сравнению с остью цветковой чешуи, реже равную ей по длине. Часть разновидностей имеет фиолетовое зерно [68].	Возделывается в Йемене и Эфиопии. Для <i>T. aethiopicum</i> характерно слабое опушение листа, низкорослость, малая кустистость [66].

Таблица 3. Описание тетраплоидных видов пшениц.

Вид	Геном	Ф-ла по видоспец. генам	Тип разв-я	Видо спец. ген	Биологическое описание	Доп. Инф-я
<i>T. dicoccum</i> (Schrank) Schuebl.	BA ^u	<i>QQ TaTa p1p1 BhBh</i>	яровой	-	Плотность колоса: 15-20. Колосья ветвистые или нормальные. Колос не спельтоидный, неплотный, широкий, сильно сжатый, характерно 2 и более зёрен на колосок. Ширина лицевой стороны 5-8 мм, двурядной стороны 8-12 мм. Вид <i>T. dicoccum</i> имеет ломкий колос. Внутренняя цветковая чешуя двукилевая, а наружная – выпуклая. Киль колосковой чешуи выражен и вверху переходит в зубец. Ости только на цветковых чешуях или колосья безостые. Зерновки обычно удлинённой формы, плёчатые [68].	Полиморфный вид, малотребовательный к условиям произрастания. Отличается скороспелостью и низкой урожайностью [66].
<i>T. carthlicum</i> Nevski	BA ^u	<i>qq tata p1p1 BhBh</i>	яровой	<i>ta</i> - тетраостость	Плотность колоса: 11-16. Стержень колоса тонкий и гибкий. Колосья ветвистые или нормальные, не спельтоидные. Для колосковых и цветковых чешуй характерна обычная длина. Видоспецифическим признаком для <i>T. carthlicum</i> является одновременно наличие остей и на цветковых, и на колосковых чешуях. Зерновки удлинённой формы [66].	Наличие остей одновременно на цветковых и колосковых чешуях получил название персикоидность (тетраостость). При скрещивании вида <i>T. carthlicum</i> с мягкими пшеницами, гибриды несут только слегка удлинённые остевидные

Таблица 3. Описание тетраплоидных видов пшениц.

Вид	Геном	Ф-ла по видоспец. генам	Тип разв-я	Видо спец. ген	Биологическое описание	Доп. Инф-я
						придатки на колосковых чешуях [68]. Ген тетраостости обозначили <i>ta</i> и картировали его на длинном плече хромосомы 5A [31].
<i>T. polonicum</i> L.	BA ^u	<i>qq tata</i> <i>P1P1</i> <i>BhBh</i>	яровой	<i>P1</i> - поло нику мнос ть	Плотность колоса: 10-14. Колосья ветвистые или нормальные, не распадаются на колоски в состоянии зрелости. Отличительным признаком этого вида является наличие очень длинных колосковых и цветковых чешуй. При этом, длина колосковых чешуй составляет 3-4 см, они травянистые (перепончатые), пергаментно-травянистой консистенции, с не явно выраженным килем. Зерновка <i>T. polonicum</i> имеет сходство с зерновкой <i>T. durum</i>. Сама по себе, зерновка сильно удлинённая, стекловидные и легко вымолачивается из колоса [68]. <i>T. polonicum</i> обладает скороспелостью (подвид эфиопский), крупнозёрностью (масса 1000 зёрен достигает до 80 г) [66].	Не имеет производственного значения. <i>T. polonicum</i> отличается высокорослостью и низкой урожайностью [66]. Ген <i>P1</i>, обуславливающий длинную чешую, расположен в хромосоме 7A и контролируется моногенно [72].

Таблица 3. Описание тетраплоидных видов пшениц.

Вид	Геном	Ф-ла по видоспец. генам	Тип разв-я	Видо спец. ген	Биологическое описание	Доп. Инф-я
<i>T. turgidum</i> L.	BA ^u	<i>qq tata p1p1 bhhb</i>	яровой, озимый	<i>bh</i> - ветвистостолосость	Большинство образцов средне- и позднеспелые. <i>T. turgidum</i> гигант среди всех пшениц мира. Отличается заметной высокорослостью, что является отрицательным признаком при возделывании, но, несмотря на это, многие образцы не полегают [66]. Плотность колоса: 16-50. Мощное растение с длинной толстой соломиной и обладающее сильной облиственностью. Колосья чаще ветвистые и не спельтоидные, не распадаются на колоски в зрелом состоянии. Членики стержня колоса в длину составляют 2.5-5 см, колосковые чешуи = 8-15 мм, а сами колосья 4-13 см и более, рыхлые или плотные. Колосковые чешуи имеют сильно выступающий киль по всей длине, вздутые, короткие, в длину составляют 8-11 мм, что приблизительно в 1.5 раза короче цветковых чешуй, прилегающих к ним. Ости имеются только на цветковых чешуях и произвольно обламываются у основания. Для колосков характерно наличие 2 и более зёрен. Зерновки удлинённой формы, крупные, чаще мучнистые [68].	Помимо ветвистостолосости у тетраплоидного вида <i>T. turgidum</i>, похожий признак есть и гексаплоидного вида <i>T. vavilovii</i>. Однако тип ветвистостолосости у этих двух видов различен, и до сих пор не удаётся интрогрессировать этот признак из тетраплоидных видов в гексаплоидные. Помимо этого, у вида <i>T. turgidum</i> этот признак нестабилен и является плохим классификационным признаком [27]. Ген <i>bh</i>, контролирующий ветвистостолосость у вида <i>T. turgidum</i> наследуется моногенно по рецессивному типу.

Таблица 3. Описание тетраплоидных видов пшениц.

Вид	Геном	Ф-ла по видоспец. генам	Тип разв-я	Видо спец. ген	Биологическое описание	Доп. Инф-я
						Локализован в хромосоме 2AS [73].
<i>T. turanicum</i> Jakubz.	BA ^u	<i>qq TaTa p1p1 BhBh</i>	яровой, полуозимый	-	Для некоторых форм характерна раннеспелость [66]. Плотность колоса: 16-18. Колосья ветвистые или нормальные. Колос не спельтоидный, неплотный, довольно рыхлый. В зрелом состоянии колос не распадается на колоски. Колосковые и цветковые чешуи удлинённые (13-16 мм). Присутствует сильно выступающий киль по всей длине колосковых чешуй. Колосья либо имеют ости только на цветковых чешуях, либо безостые. Колоски имеют два и более зёрен на колосок. Зерновки удлинённой формы [68].	-
<i>T. araraticum</i> Jakubz.	GA ^u	<i>QQ TaTa p1p1 BhBh</i>	яровой	-	Плотность колоса: 18-21. Колосья умеренно сжатые, узкие, плоские. Вид характеризуется ломкоколосостью, и колосья распадаются на колоски начиная со стадии молочной спелости. <i>T. araraticum</i> отличается остистостью только на цветковых чешуях (ости тонкие, негрубые). Колоски имеют два и более зёрен на колосок. Зерновки удлинённой формы, зерно стекловидное. Высота растений достигает 120 см. Сами растения покрыты восковым налетом, узлы	Пшеница араратская обитает зачастую вместе с дикой однозернянкой и эгилопсами [66].

Таблица 3. Описание тетраплоидных видов пшениц.

Вид	Геном	Ф-ла по видоспец. генам	Тип разв-я	Видо спец. ген	Биологическое описание	Доп. Инф-я
					почти голые. Для вида <i>T. araraticum</i> характерно опушение жёсткими волосками как листовых пластинок, так и влагалищ листьев (особенно нижних) [66].	

1.4.1.3. Диплоидные виды пшеницы $2n = 2x = 14$

Важным аспектом следует считать создание и поддержание в чистоте коллекции диплоидных видов пшеницы. Они являются наиболее древними представителями рода *Triticum* L. и характеризуются наличием генома А который будет унаследован впоследствии всеми полиплоидными видами [74].

Диплоидные виды *T. urartu* A^u и *T. boeoticum* A^b принято считать родоначальниками одно-, дву- и трёхгеномных видов пшениц [66]. В диплоидную группу ($2n=14$) включают 4 вида: пшеница урарту (*T. urartu*), однозернянка дикорастущая или беотийская (*T. boeoticum*), однозернянка культурная (*T. monococcum*) и пшеница Синской (*T. sinskajae*).

Таблица 4. Описание диплоидных видов пшениц.

Вид	Геном	Ф-ла по видоспец. генам	Тип разв-я	Видос пец. ген	Биологическое описание	Доп. Инф-я
<i>T. urartu</i> Thum. ex Gandil.	A ^u	QQ	озимы й	-	Колосья не спельтоидные, сильно сжатые, колоски двуцветковые, одно-, редко двузёрные. В колоске может быть две зерновки различные по размерам и цвету. Вид плёнчатый. Для листьев характерно бархатистое опушение. Сильно выраженный основной килевой зубец значительно длиннее зубца главной боковой жилки [27]. Обладает спонтанно ломким колосом, трудно вымолачивается [66].	<i>T. urartu</i> часто растёт совместно с <i>T. boeoticum</i> на сухих склонах предгорий.
<i>T. boeoticum</i> Boiss.	A ^b	QQ	в основн ом озимы й, реже яровой	-	Колосья не спельтоидные, узкие, плотные, сильно сжатые, колоски двуцветковые, одно-, редко двузёрные [69]. Вид плёнчатый. Листья характеризуются довольно жёстким опушением. Килевой зубец широкий в основании и короткий. Для колосков характерно ломкоколосость и наличие 1-2 остей. Членики колосового стержня по рёбрам и основаниям колосков обильно покрыты длинными волосками. После созревания внутренняя цветковая чешуя зерновки расщепляется на 2 продольные части [27]. <i>T. boeoticum</i> характеризуется сильной ломкостью колосового стержня и очень трудной вымолачиваемостью [66].	Цитоплазма даёт ЦМС [27].

Таблица 4. Описание диплоидных видов пшениц.

Вид	Геном	Ф-ла по видоспец. генам	Тип разв-я	Видоспец. ген	Биологическое описание	Доп. Инф-я
<i>T. monosocum</i> L.	A ^b	QQ	яровой, реже озимый	<i>Ua</i> – 1 ость на колосковой чешуе	Колосья не спельтоидные, неплотные, очень узкие, плоские, сильно сжатые, колоски одноцветковые. Вид плёнчатый. Для листьев примечательно жёсткое опушение. Килевой зубец широкий в основании и короткий [27]. Выраженность килля у колосковой чешуи слабая, основной зубец развит, боковая жилка отчётливо выражена и заканчивается зубцом [69]. После созревания зерновки, внутренняя цветковая чешуя разделяется на 2 продольные части. Для каждого колоска типично наличие 1 ости. И основания колосков, и членики колоскового стержня - полностью/почти голые. По сравнению с другими диплоидными видами пшеницы, колосья <i>T. monosocum</i> менее ломкие [27]. Соломина тонкостенная, полая, гибкая, эластичная. Растения устойчивы к полеганию, ломкоколосые, имеют низкую семенную продуктивность [69].	Имеет только одну ость на колосковой чешуе. Этот признак контролируется геном <i>Ua</i> [27].
<i>T. sinskajae</i> A. Filat. et Kurk.	A ^b	qq	яровой	<i>awnS</i> – безостость; <i>sog</i> – компа	Колос не спельтоидный, безостый. Колосья узкие, плотные, сильно сжатые. Верхушка колоса всегда стерильная. В колоске, как правило, одна, реже две зерновки, неплотны	Вид <i>T. sinskajae</i> является естественным голозёрным мутантом культурной однозернянки [27].

Таблица 4. Описание диплоидных видов пшениц.

Вид	Геном	Ф-ла по видоспец . генам	Тип разв-я	Видос пец. ген	Биологическое описание	Доп. Инф-я
				ктная форма колоса	заклученные в чешуи. Отличается компактоидностью [27]. Не ломкоколосый и обладает высокой устойчивостью к полеганию.	<i>T. sinskajae</i> - единственный диплоидный вид, имеющий безостую форму колоса. Безостость контролируется геном <i>awnS</i>, локализованным в хромосоме 5A, моногенно по рецессивному типу [75]. <i>T. sinskajae</i> - единственный диплоидный вид, имеющий компактную форму колоса. Признак контролируется моногенно, геном <i>sog</i>, по рецессивному типу [27].

T. sinskajae при исследовании филогенетических взаимоотношений диплоидных пшениц редко включается в анализ [75]. Остаётся открытым вопрос о филогении всех четырех видов диплоидных пшениц в связи с выделением диплоидной пшеницы *T. sinskajae* в отдельный вид. Филатенко, Куркиев [76], впервые исследовавшие данный вид пшеницы, упоминают его как самостоятельную таксономическую единицу. Однако, в монографии «Культурная флора СССР. Пшеница» [77] подчёркивается, что пшеница Синской является результатом спонтанной мутации *T. monococtum* [78]. Вместе с тем, *T. sinskajae* характеризуется рядом уникальных признаков, присущих самостоятельному виду. Она единственная голозерная, легкообмолачиваемая диплоидная пшеница, с компактной и безостой формой колоса [71].

В работе Чемериса с соавт. была предпринята попытка сравнить четыре диплоидных вида пшениц выравниванием варибельного межгенного участка *petN-trnC-GCA* хлоропластного генома, с целью установления филогенетической близости между ними [79]. Ими было построено филогенетическое древо, благодаря которому становится очевидной общность происхождения хлоропластного генома *T. monococtum* и *T. sinskajae* [79], что согласуется с данными Гончарова и др. [80]. Следует заключить, что *T. sinskajae* – это близкий к *T. monococtum*, отдельный вид диплоидных пшениц [79; 81]. Затем к данной группе примыкает вид *T. boeoticum*. Вид *T. urartu* наиболее сильно отличается от остальных трех видов диплоидных пшениц.

T. boeoticum, *T. monococtum* и *T. sinskajae* с высокой вероятностью являются близкородственными видами, в то время как *T. urartu* существенно отличается от них.

1.4.2. Фенотипирование в систематике пшениц

По мнению Н. И. Вавилова, в процессе анализа растений одного вида, обнаруженного в различных областях ареала, выявляются все новые морфологические и физиологические вариации признаков, особенно при использовании генетических (гибридологических) методов исследования [82; 83]. Поэтому «Линневский вид» (линнеон) может быть разбит на подвиды, те, в свою очередь, на разновидности. Сами же разновидности могут быть разделены на расы.

Для лучшего понимания способов определения границ видов, Н.И. Вавилов сформулировал понятие Закона гомологических рядов в наследственной изменчивости:

$$\begin{aligned} L_1 (a + b + c + d + e + f + g + h + i + k...) \\ L_2 (a + b + c + d + e + f + g + h + i + k...) \\ L_3 (a + b + c + d + e + f + g + h + i + k...), \end{aligned}$$

а именно - формула, отображающая закон гомологической изменчивости (по Н.И. Вавилову [84]). L_1 , L_2 , L_3 – радикалы, т.е. признаки, исходя из которых «линнеоны» друг от друга отличаются; $a + b + c + d + e + f + g + h + i + k...$ – другие изменяющиеся признаки (форма листьев, цветковых и колосковых чешуй, их цвет и др.)

Проявление любого, из описанных выше признаков - сложное и может быть разделено на 2, 3 и более аллеломорфы (морфологические и физиологические единицы). К примеру, при описании окраски чешуй, белая, жёлтая, красная и серая окраска будут обозначаться a_1 , a_2 , a_3 и a_4 , соответственно [83]. Таким образом, любой аллеломорф может быть отображён как аллель определённого гена, т.е. в качестве термина "генотипического состава".

Одна из характеристик изменчивости фенотипа, это то, что не все теоретически возможные альтернативы фенотипической изменчивости реализуются в ходе развития каждого вида (рода) [85]. Именно это и подтверждает тот факт, что имеющиеся признаки, делятся на таксономически значимые и так называемые, свободно варьирующие «радикалы», которые не имеют таксономического значения.

Таким образом, как отмечает Н.И. Вавилов, при составлении классификации, признаки должны обладать разным влиянием, в связи с тем, что совокупность меньшинства значимых из них позволяет определить различия между видами (родами), в то время, как совокупность разнообразия оставшихся признаков, при ближайшем рассмотрении, окажется в определенной мере одинакова у сравниваемых родов или «линнеонов» [84].

1.4.3. Цифровые коллекции

На текущий момент объёмы экспериментальных данных в биологических исследованиях существенно возрастают. С одной стороны, на этот процесс влияет широкое применение новейших информационных технологий, с другой – возрастание числа проводимых опытов [86]. В мире существует большое число коллекций растительного материала, возрастающее с каждым годом. Королевский ботанический сад Кью в Великобритании содержит более 8.5 миллионов растений, Нью-Йоркский ботанический сад в США и Национальный музей естественной истории в Париже – почти 8 миллионов растительных образцов каждый [87].

Говоря о России, нельзя не отметить Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН в г. Санкт-Петербурге, где собрано более 7 миллионов гербарных листов. Помимо этого, в условиях сибирского региона создана биоресурсная коллекция ГенАгро на базе генколлекций растений ИЦиГ СО РАН и СибНИИРС, включающая более 11 тысяч образцов культурных

растений с информацией об их генетических, морфологических, физиологических и биохимических характеристиках [88].

Все имеющиеся ботанические коллекции можно условно разделить на: живые коллекции, иконотеки, гербарии, генколлекции и др. Имеют место быть и так называемые признаковые коллекции, которые предполагают подбор различного материала по определённым свойствам в видовых и сортовых коллекциях, которые необходимо проанализировать [89]. Материал для признаковой коллекции может отличаться как фенотипически, так и по физиологическим и биохимическим показателям [90]. Создание таких коллекций является актуальной задачей, т.к. позволяет селекционерам иметь доступ к исходному материалу с необходимыми признаками [4].

Объёмная работа по созданию признаковых коллекций проделана в Республике Беларусь, а именно, учёными РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию» сформировано 25 признаковых коллекций зернобобовых, зерновых, крупяных и масличных культур. Сюда же входит 5 признаковых коллекций пшеницы, в которых было изучено содержание белка, зимостойкость, короткостебельность и устойчивость к мучнистой росе. Затрагивая овощные культуры, необходимо упомянуть работу ученых в Республике Армения, где были сформированы признаковые коллекции огурца (селекционные линии женских растений), томатов (скороспелость), тыквы (голосемянность) и перца (окраска и масса плода, сроки созревания, содержание сухих веществ) [91].

При создании ботанических коллекций накапливается значительный объём информации, а вместе с ним и ошибки, например, неверная идентификация вида или неточное классификационное название. Помимо этого, необходимо соблюдать единообразие при работе с описанием и составлением коллекций [92]. Исходя из этого, развитие электронных методов для передачи и хранения информации поможет правильно систематизировать полученную информацию и сократит неточности в описании растительного

материала. Помимо этого, цифровой формат коллекций позволит избежать сложностей в интерпретации результатов и исключит недопонимание между исследователями.

В настоящий момент актуальной задачей является оцифровка гербарных коллекций [93]. Такой гербарий может стать основой для фенологических исследований, использоваться в образовательных проектах, а также расширить знания о таксономии растений, в особенности при изучении редких видов [94].

В России зарегистрировано 116 гербарных коллекций, включающих 16 миллионов образцов [95]. Среди них есть ЦК, которые ежегодно пополняют данные, а именно:

- Московский государственный университет (MW): 1 012 061 образцов, 1 003 480 изображений (<https://plant.depo.msu.ru/>);
- Центральный сибирский ботанический сад СО РАН (NS, NSK): 680 000 гербарных листов, изображений 33 500, из них в цифровом гербарии 31 225 (<http://herb.csbg.nsc.ru:8081>);
- Ботанический сад-институт, Владивосток (VBGI): 56 176 образцов, 31 556 изображений: в том числе гербарии ABGI, КАМ, SABZ, САК, САКН (<http://botsad.ru/herbarium/>);
- Институт экологии растений и животных УрО РАН, Екатеринбург (SVER): 10 920 образцов и изображений высших сосудистых растений (<https://herbarium.ipae.uran.ru/index.php>).

Достоинство ЦК заключается в том, что для обработки объёмных массивов данных, которые содержатся в базах данных (информация о произрастании, морфологии и др.) не требуется больших материальных затрат. Особенно актуальной является оцифровка труднодоступных коллекций с редким растительным материалом и материалом с удалённых территорий. Свободный доступ к оцифрованным коллекциям (базам данных) позволит

актуализировать знания о таксономии и систематике растений и определить аутентичность хранящихся в них образцов.

1.5. Архитектоника и нейронные сети

Анализируя вопрос классификации, становится очевидным, что количество различных характеристик и параметров, необходимых для описания каждого отдельного объекта весьма велико [96]. Исходя из этого, кажется актуальным использование алгоритмов машинного обучения для обработки большого количества материала, а также поиске связей между признаками. По принципу работы чаще выделяют следующие категории алгоритмов: контролируемое обучение (загружаем пример, знаем, как должен выглядеть результат, алгоритм обеспечивает прогнозирование), неконтролируемое обучение (работаем без примера, не знаем, как должен выглядеть результат, алгоритм самостоятельно группирует данные) и обучение с подкреплением (после каждого действия алгоритм уточняет как ему действовать дальше). Для задач фенотипирования растений чаще используют алгоритмы с контролируемым и неконтролируемым обучением, в связи с тем, что изучаемые объекты необходимо разделить на 2 (истина/ложь) – двухклассовая классификация и большее количество классов – многоклассовая классификация.

Реализация 2 основных методов обучения представлена в следующих алгоритмах:

- Линейная регрессия [97]
- Логистическая регрессия [98]
- Метод k-средних [99]
- Метод опорных векторов [100]
- Байесовский классификатор [101]
- Нейронные сети [102]

- Деревья принятия решений [103]
- Случайный лес [104]

С учётом развития технологий машинного зрения, задача выявления морфологических признаков становится решаемой. Получив изображения растений и загрузив их в БД, исследователь имеет возможность сравнить растения между собой, выявив важные видоспецифические признаки. Очевидно, что обработка и просмотр тысячи изображений займёт у исследователя много времени. Поэтому существует возможность научить нейронную сеть обрабатывать и сравнивать эти изображения автоматически. В свою очередь обученная нейронная сеть даст исследователю информацию о том, какие различия, будут существенны, а также, какой «вес» эти различия имеют для каждого вида растений.

1.5.1. Современные компьютерные методы фенотипирования

Одним из активно разрабатываемых подходов, применяемых в промышленных масштабах, являются системы машинного зрения для управления различными процессами, создания новых технологий, включая виртуальную реальность. В зерновой промышленности внедрение данной технологии отмечено с 2000-х годов и в настоящее время продолжается быстрыми темпами. Применение методик обработки изображений в сфере сельского хозяйства осложнилось в связи с рядом проблем. Прежде всего, выраженный разброс формы, цвета, размера, текстуры изучаемых объектов. Для целей проверки и сортировки зерновых культур в 1980 году впервые была предложена система анализа изображений, предназначенная для выполнения лишь простых задач [105]. В данных устройствах использованы монохромные датчики невысокого разрешения (128×128 пикселей), а также простые методы обработки изображений [106]. Позднее, в девяностых годах с появлением твердотельных датчиков изображений и высокоскоростных

микрокомпьютеров стала возможной обработка цветных образов биологических объектов.

Основоположниками разработки систем машинного зрения для агропромышленного комплекса следует считать ряд научных коллективов: Draper D. R. et al. [107; 108], Lai F. S. [109], Zayas I. et al. [110-113]. В работах этих авторов представлены основные принципы, подходы применения методов анализа изображений, распознавания образов биологических объектов. Примером может служить использование методов машинного зрения для выявления и верификации соевых бобов, пораженных грибной инфекцией [114].

Для описания формы колоса известны 3 наиболее распространённые модели, а именно: модель сечений, модель четырёхугольников и радиальная модель. Посредством каждой из этих моделей можно описать форму колоса. Однако признаки, использующиеся в описании, будут различны.

В последние годы для дальнейшего развития метода компьютерного зрения активно используются нейронные сети глубокого обучения, что следует считать наиболее перспективным [115].

1.5.2. Сверточные нейронные сети

Одним из способов анализа изображений для классификации растений, их болезней является использование многослойных, сверточных нейронных сетей (Convolution Neural Net-works – CNN) [116]. В качестве принципа работы устройства, который используется для данной цели, лежит "свертка", представляющая из себя операцию над матрицами A и B , итогом которой является матрица C . Чтобы вычислить любой из элементов данной матрицы, необходимо произвести скалярное произведение матриц B и A той же

размерности. Подматрица устанавливается в матрице C как позиция элемента, который вычисляется.

Иначе говоря, происходит сканирование матрицы B по матрице A таким образом, что производится подсчёт скалярного произведения матрицы B и того фрагмента матрицы A , на которую матрица B наложена в данный момент, а полученный результат записывается в определённый, соответствующий элемент матрицы C . Для данного примера, матрица A - изображение, матрица B - фильтр. Однако, данная конструкция реализуется в том случае, если необходимое изображение имеет 1 входной канал. В то же время, цветные изображения имеют три входных канала, и получается, что у фильтра будет 3 уникальных ядра. Таким образом, в результате получается 3 результирующих матрицы C , т.к. каждое ядро фильтра перемещается по соответствующему ему каналу. При складывании этих трёх матриц на выходе получается один суммарный выходной канал.

Механизм свёртки происходит в свёрточном слое нейронной сети, причём, именно в данном слое происходит отбор совокупности признаков, а именно: края, линии, цвет, градиентная ориентация. В роли функции катализатора свёрточного слоя применяется выпрямитель ReLU [116].

В устройстве, помимо свёрточного слоя, имеется так же пулинговый слой (Pooling), необходимый для уменьшения размера изображения после свёртки. Известны 2 типа пулинга, а именно: максимальный (возвращает максимальное значение для нескольких элементов изображения, которое покрывается фильтром) и средний (возвращает среднее значение для нескольких элементов изображения). Таким образом вместо нескольких элементов, остаётся один. Функционально, пулинговый слой необходим для извлечения таких доминирующих признаков, которые не зависят от позиционирования объекта и вращения. Помимо этого, пулинг позволяет подавить шум, а также может понизить вычислительную мощность, которая требуется для обработки данных.

Резюмируя, можно сказать, что слой свёрточной нейронной сети состоит из совокупности пулингового и свёрточного слоёв. Количество слоев можно увеличить в соответствии с изображением, подаваемым на вход. Чтобы произвести правильное распределение исследуемых объектов по классам, нейросети необходим слой-классификатор на выходе. Для этого, совокупность признаков, которые были получены после двух слоёв свёрточной нейронной сети (свёртки и пулинга), суммируются в 1 вектор для поступления на выходной полносвязный слой нейронов. Функция активации на этом слое - сигмоидальная или Softmax [117]. В качестве функции потерь свёрточной нейронной сети, благодаря которой происходит дифференциация характеристик изображения, которые будут являться входными данными для классификатора [118] - используется функция кросс-энтропии [116].

С помощью подобного алгоритма обработки изображений сети машинного обучения способны автоматически извлечь его признаки, необходимые для более точной классификации. Это отличает сети глубокого обучения от обычных нейронных сетей, в которых для классификации используются признаки изображений, определяемые человеком: например, для колоса это геометрические характеристики моделей, описанные в предыдущем разделе.

Стоит отметить, что именно данный подход последнее время активно внедряется не только в науке, но и практически во всех сферах современной деятельности человека. Поэтому использование данного метода является весьма перспективным методом исследования описания сельскохозяйственных видов культур.

Важной особенностью нейронных сетей глубокого обучения является большое число параметров, описывающих их структуру (до нескольких миллионов). В той связи, их обучение требует выборки изображений большого размера. Типичный объем – несколько тысяч изображений. Без формирования таких выборок, их аккуратной систематизации и аннотации применение

глубоких сетей машинного обучения оказывается невозможным. В этой связи большую актуальность для решения задач классификации пшениц приобретает экспертная работа по формированию выборок изображений колосьев пшениц разных видов, а также их аннотация. Такие выборки могут быть сформированы на основе оцифровки коллекций пшениц, в которых представлено широкое разнообразие пшениц по видам и разновидностям.

Заключение к обзору литературы

В ряде исследований установлено, что архитектура растений тесно связана с урожайностью. Один из путей расширения биоразнообразия возделываемых пшениц - накопление информации по архитектуре и архитектуре у видов злаков. Существует возможность переноса генов-гомологов (ортологов) посредством молекулярно-биологических подходов в пшеницу. Исходя из этого, видится перспективным изучение генетического контроля архитектуры вегетативных и генеративных органов злаков, в связи с тем, что данные злаки являются в большей степени злаками Старого Света.

Процесс доместикации оказал большое влияние на изменение архитектуры и свойств диких видов пшениц. Ключевую роль в этом процессе сыграл отбор по таким признакам, которые позволили проводить успешное возделывание растений пшеницы на обширных территориях, а именно: яровой тип развития, голозёрность и отсутствие ломкоколосости.

В настоящее время известно, что в контроле видообразующих признаков колоса у видов пшеницы участвуют как минимум четыре различных гена. Одним из них является ген спельтоидности *q*, который отвечает за обмолачиваемость, ломкость стержня и форму колоса, другой ген, отвечающий за неломкий стержень, это ген *Btr1* - ломкость колоса и его жёсткость.

Важно отметить, что ген *Q*, расположенный на длинном плече хромосомы 5A, является одним из ключевых генов, вовлеченных в процесс доместикиции. Он имеет плеiotропное действие и отвечает за многие хозяйственно важные признаки пшениц, такие как: высота растения, длина оси колосового стержня, форма колоса, наличие/отсутствие ломкости колоса, голозерность/пленчатость, форма и жесткость колосковой чешуи и др. По причине того, что ген *Q* контролирует названные выше признаки, он играет ведущую роль в широком распространении голозёрных видов в культуре (*T. durum* - твёрдая пшеница, *T. aestivum* - мягкая пшеница), в отличии от плёнчатых видов.

Происхождение современных культивируемых полиплоидных видов пшеницы имеет сложную и не до конца выясненную историю, которая включает в себя появление видов рода *Triticum*. Совместное использование биоинформатики и экспериментальных методов исследования позволяет установить филогенетические взаимоотношения видов внутри различных таксонов.

При проведении исследовательской работы в селекции, генетике и ботанике, зачастую проводится фенотипирование образцов растений, а именно визуальная оценка различных параметров. Результаты такого фенотипирования имеют большое значение для систематики растений, поскольку позволяют, наравне с результатами других методов, отнести растения к той или иной систематической группе. При выборе параметров, на основании которых будет проводиться фенотипирование, необходимо иметь в виду, что для каждого таксона они будут отличаться.

В настоящий момент актуальной задачей является оцифровка гербарных коллекций. Такой герабрий может стать основой для фенологических исследований, использоваться в образовательных проектах, а также расширить знания о таксономии растений, в особенности при изучении редких видов

Достоинство ЦК заключается в том, что для обработки объёмных массивов данных, которые содержатся в гербарных образцах (информация о произрастании, морфологии и др.) не требуется больших материальных затрат. Особенно актуальной является оцифровка труднодоступных коллекций с редким растительным материалом и материалом с удалённых территорий. Свободный доступ к оцифрованным гербарным коллекциям позволит актуализировать знания о таксономии и систематике растений.

В современных исследованиях при постановке эксперимента, процесс фенотипирования подразумевает визуальный анализ экспертом более тысячи растений. С учётом количества признаков, которые будут оцениваться, становится очевидным, что это потребует колоссальных затрат времени. Поэтому автоматизация этого процесса является актуальной задачей для генетиков и селекционеров. Существует несколько путей, которые помогут повысить эффективность фенотипирования колосьев, а именно: создание ЦК и организация хранения в них информации, реализация технологий анализа цифровых изображений, а также внедрение алгоритмов машинного обучения для оценки полученной информации.

С учётом развития технологий машинного зрения, задача выявления морфологических признаков становится решаемой. Получив изображения растений и загрузив их в БД, исследователь имеет возможность сравнить растения между собой, выявив важные видоспецифические признаки. Одним из активно разрабатываемых подходов, применяемых в промышленных масштабах, являются системы машинного зрения для управления различными процессами, создания новых технологий, включая виртуальную реальность. В последние годы для дальнейшего развития метода компьютерного зрения активно используются нейронные сети глубокого обучения, что следует считать наиболее перспективным.

Одним из способов анализа изображений для классификации растений, их болезней является использование многослойных, сверточных нейронных

сетей, обеспечивающих правильное распределение исследуемых объектов по классам. Поэтому использование данного метода прогностически является весьма перспективным методом исследования описания сельскохозяйственных видов культур.

В процессе изучения видоспецифических признаков растений пшеницы наибольший объём информации накоплен по тетраплоидным и диплоидным видам. Гексаплоидные виды пшениц изучены достаточно хорошо, и наследование видоспецифических признаков у них подробно описано. В свою очередь у пшениц других уровней ploидности, изучение этих признаков следует изучить более подробно.

Весьма важным аспектом развития систематики следует считать создание коллекций растений пшеницы. Важной задачей при работе с *ex situ* коллекцией, является задача сохранения истинности или подлинности образцов, которые в ней содержатся. Вид *T. durum* отличается довольно широким внутривидовым разнообразием, поэтому во избежания путаницы среди образцов после восстановления всхожести и их размножения, важно правильно распределить образцы по разновидностям, используя информацию о морфологических признаках колоса и зерновки. Благодаря этому, получение новых ботанических разновидностей, позволит систематизировать те образцы, которые относятся к одной из этих разновидностей, а это даёт способность контролировать подлинность образца и сохранять идентичность коллекции. Одной из значимых составляющих коллекций пшениц являются диплоидные виды пшеницы. *Triticum sinskajae* при исследовании филогенетических взаимоотношений диплоидных пшениц редко включается в анализ наряду с такими видами, как *T. urartu*, *T. monococcum*, *T. boeoticum*. Остаётся открытым вопрос о филогении всех этих четырех видов диплоидных пшениц в связи с выделением диплоидной пшеницы *T. sinskajae* в отдельный вид.

Литературные данные по различным видам пшениц, особенно диплоидным и тетраплоидным, нередко являются малоинформативными.

Поэтому важность накопления новых данных и изучение этих видов является довольно острой проблемой не только для систематики, но и для смежных наук: селекции, генетики, биоинформатики. Активное внедрение методов биоинформатики в повседневность, ставит новые задачи и перед научным миром, в том числе и перед биологами, селекционерами, генетиками и агрономами. Именно данные специалисты, выполняющие задачи в сложных полевых условиях, нередко сталкиваются с большим количеством вопросов, касающихся определения аутентичности уже растущих видов и сортов. Кроме того, биологи-селекционеры нередко поставляют биоматериал для новых исследований, скрещивают известные сорта культур для создания гибридов, а биологи-генетики, занимающиеся исследовательской работой в лабораториях, изучают молекулярные механизмы, приведшие к созданию того или иного вида. Поэтому, важность создания новой совершенной репрезентативной ЦК заключается не только в создании конкурентного информационного продукта на рынке услуг для биологов, но и также в развитии самой коллекции, позволяющей всем исследователям, задействованным в её создании получить максимально быстрый и точный ответ на заданные вопросы. Ведь именно от объёма и точности поставленных материалов селекционерами, биоинформатики могут максимально точно обучить нейросеть, а генетики объяснить эволюционную причину тех или иных признаков, что поможет с высочайшей точностью гарантировать появление тех или иных гибридов при скрещивании отдельных видов.

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Растительный материал

Объектом исследования послужила пшеница разного уровня плоидности (ди-, тетра- и гексаплоидная) из коллекции сектора генетики пшеницы ИЦиГ СО РАН (г. Новосибирск) (таблица 5).

Таблица 5. Виды пшениц, изученные в работе.

Плоидность (2n)				
Виды диплоидной пшеницы (2n = 2x = 14)	Виды тетраплоидной пшеницы (2n = 4x = 28)	Виды гексаплоидной пшеницы (2n = 6x = 42)	Виды октаплоидной пшеницы (2n = 8x = 56)	Виды декаплоидной пшеницы (2n = 10x = 70)
<i>T. monosocum</i> L. (18 образцов)	<i>T. dicoccoides</i> (Körn. ex Aschers. et Graebn.) Schweinf. (18 образцов)	<i>T. aestivum</i> L. (11 образцов)	<i>T. sovieticum</i> Zhebrak (1 образец)	<i>T. borisovii</i> Zhebrak (1 образец)
<i>T. urartu</i> Thum. ex Gandil. (10 образцов)	<i>T. durum</i> Desf. (24 образца)	<i>T. antiquorum</i> Heer ex Udacz. (2 образца)	<i>T. flaksbergeri</i> Navr. (1 образец)	
<i>T. boeoticum</i> Boiss. (7 образцов)	<i>T. aethiopicum</i> Jakubz. (29 образцов)	<i>T. compactum</i> Host (3 образца)		
<i>T. sinskajae</i> A. Filat. et Kurk. (1 образец)	<i>T. dicoccum</i> (Schränk) Schuebl. (19 образцов)	<i>T. petropavlovskii</i> Udacz. et Migusch. (8 образцов)		
	<i>T. timopheevii</i> (Zhuk.) Zhuk. (21 образец)	<i>T. yunnanense</i> King ex S.L. Chen (5 образцов)		
	<i>T. carthlicum</i> Nevski (20 образцов)	<i>T. spelta</i> L. (4 образца)		
	<i>T. polonicum</i> L. (18 образцов)	<i>T. macha</i> Dek. et Men. (8 образцов)		
	<i>T. turgidum</i> L. (14 образцов)	<i>T. vavilovii</i> Jakubz. (4 образца)		

Таблица 5. Виды пшениц, изученные в работе.

Плоидность (2n)				
Виды диплоидной пшеницы (2n = 2x = 14)	Виды тетраплоидной пшеницы (2n = 4x = 28)	Виды гексаплоидной пшеницы (2n = 6x = 42)	Виды октаплоидной пшеницы (2n = 8x = 56)	Виды декаплоидной пшеницы (2n = 10x = 70)
	<i>T. turanicum</i> Jakubz. (1 образец)	<i>T. sphaerococcum</i> Perciv. (2 образца)		
	<i>T. araraticum</i> Jakubz. (1 образец)	<i>T. tibetanum</i> Shao (1 образец)		
	<i>T. militinae</i> (Zhuk. et Migusch.) Valdes & H. Scholz (1 образец)	<i>T. timococcum</i> Kostov (1 образец)		
		<i>T. kiharae</i> Dorof. et Migusch. (1 образец)		
		<i>T. dimococcum</i> Scheiman ex Staudt (1 образец)		
		<i>T. zhukovskyi</i> Menabde et Erizjan (1 образец)		

Эксперименты проведены в яровом посеве, в парниках селекционно-генетического комплекса (СГК) и в гидропонной теплице Института цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск в 2019-2024гг.

2.2. Условия проведения эксперимента

2.2.1. Гидропонная теплица

Данным образом выращивались образцы видов пшеницы из таблицы 1, а также гибридные формы F₁.

Высадка 1-листных проростков – 1 октября (2019г.), 11 февраля (2020г.), 7 октября (2020г.), 5 февраля (2021г.), 5 октября (2021г.), 1 февраля (2022г.), 4 октября (2022г.), 31 января (2023г.) и 3 октября (2023г.). Свежеубранные и позднеспелые растения предварительно яровизировали 5-6 дней при $t^{\circ} = 0-2^{\circ}\text{C}$, с варьированием этих условий, в зависимости от их «требовательности» к яровизации. Глубина заделки проростков составляла 1.5 – 2 см. Перед посевом, тепличная ванна была обработана раствором марганца. В качестве субстрата в ванне используется керамзит. Были соблюдены стандартные условия выращивания в гидропонной теплице (длительность освещённости – 18 ч, влажность – 70 %, t° - 22 $^{\circ}\text{C}$). Каждое растение выращивалось под индивидуальным номером, а для этого на каждое растение были прикреплены этикетки после наступления фазы «флаговый лист». Начало даты уборки – 8 января (2020г.), 16 мая (2020г.), 14 января (2021г.), 10 мая (2021г.), 12 января (2022г.), 5 мая (2022г.), 11 января (2023г.), 19 мая (2023г.) и 5 января (2024г.).

2.2.2. В условиях парника

Данным образом выращивались гибридные формы F_2 гибридов. Предшественником являлся пар. До посева было выполнено внесение удобрения - Азофоски (N60P60K60) и боронование. Помимо этого, была произведена разбивка и маркировка парников. Размер парника составляет 15м^2 (1м – ширина; 15м - длина).

Схема посева: 5 см $\times$ 15 см (5 – расстояние между растениями, 15 – расстояние между рядками), по 20 растений в ряд. Глубина заделки семян - 3-4 см. Даты посева: 12 мая (2021г.), 12 мая (2022г.) и 12 мая (2023г.). В целях уменьшения испарения влаги из почвы, после посева было выполнено уплотнение почвы. Свежие парники были накрыты агрилом - нетканый укрывной материал. Эта процедура выполняется в целях защитить всходы от шведской мухи. В течении вегетации с периодичностью раз в неделю, было произведено рыхление почвы. Это мероприятия осуществлялось для

проникновения воздуха в почву. Помимо этого, с той же периодичностью, производилась прополка междурядий – удаление сорняков. Датами начала уборки были: 4 сентября (2021г.), 10 сентября (2022г.) и 16 августа (2023г.). Все мероприятия по посеву, уходу за растениями в течении вегетации и уборкой производились вручную.

2.3. Методы генетического анализа

2.3.1. Гибридологический анализ

Гибридологический анализ использовали для идентификации генотипов по видоспецифическим признакам. Ввиду того, что большинство этих признаков контролируются по моногенному типу и имеют чёткое фенотипическое проявление, гибридологический анализ являлся незаменимым и основным видом анализа для последующей детальной разработки классификации и фенотипирования ЦК колосьев видов пшениц с использованием методов машинного обучения. При его проведении изучали расщепление F_1 и F_2 гибридов. Соответствие полученных результатов теоретически ожидаемым оценивается с использованием критерия Пирсона χ^2 .

F_1 гибриды между сортами размножали в теплице, F_2 гибриды в количестве до 200 зёрен в каждой комбинации высевали в парниках в 2021-2023гг.

2.3.2. Выделение ДНК, ПЦР-амплификация и клонирование генов *Btr-1*

С помощью мини-набора DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN, США) было проведено выделение общей ДНК из 100 мг листьев. Основываясь на последовательностях генов *Btr1*, доступных в GenBank, и последовательностях всего генома (WGS) *T. dicoccoides* (LSYQ02000006) и *T. aestivum* (OETA01178479), были разработаны геномспецифичные праймеры для амплификации генов *Btr1-A* и *Btr1-B/Btr1-S*. Пары праймеров *Btr-A1-F/Btr-*

A1-R (5'-CGAGCTTGACCTCATGTAAC-3'/5'-CTACTGCATCATCAGTCCATC-3') и *Btr1-BF/Btr1-BR* (5'-GACGAGCTTGACCTCCCATGAG-3'/5'-GTGCGAATCGCTACTCCATC-3') обеспечивают амплификацию обеих кодирующих областей 5' и 3' и нетранслируемые области (UTR) *Btr1-A* и *Btr1-B/Btr1-S*, соответственно. Дополнительный праймер, *Btr1-BR2* 5'-GTCCGGCTGTGAAGCATGAA-3', был разработан для амплификации 5' UTR и частичной последовательности кодирующей области *Btr1-B/Btr1-S*. Для амплификации *Btr1-G* использовали несколько комбинаций пар праймеров, включая праймеры, разработанные в настоящем исследовании (*Btr1B-qPCR_F*: 5'-GCGGTACACCTCGTTGCAC-3', *Btr1-BR2*, *Btr1-BF*, *Btr1-BR*) и праймеры, разработанные Avni et al. [119].

Реакции ПЦР проводили в объеме 20 мкл, содержащем 20 нг общей геномной ДНК, 10 мМ Трис-НСl (рН 8.9), 1 мМ (NH₄)₂SO₄, 1.5 мМ MgCl₂, 200 мкМ dNTPs, 0.5 мкМ праймеров и 1 единицу Taq ДНК-полимеразы. Программа ПЦР была следующей: начальный этап денатурации при 95 °С в течение 4 минут, затем 35 идентичных циклов денатурации при 95 °С в течение 30 секунд, отжиг при 55 °С в течение 30 секунд и элонгация при 72 °С в течение 1 минуты (ожидаемый размер продукта ПЦР составлял ~1000 п.н.), за которым следует заключительный этап амплификации продолжительностью 10 минут при 72 °С, заключающийся в финальной элонгации получившегося продукта ПЦР (таблица 6).

Анализ продуктов ПЦР производился методом электрофореза, с использованием 1% агарозного геля. При помощи набора для извлечения геля QIAquick (QIAGEN, США) было выполнено очищение. При помощи набора pGEM-T Easy kit (Promega, США), уже очищенные продукты ПЦР клонировали в вектор pGEM®-T Easy, а затем, с использованием стандартных праймеров M13 перед секвенированием, дополнительно амплифицировали. Полученные продукты ПЦР анализировали с использованием электрофореза в

1% агарозном геле и очищали с помощью набора для извлечения геля QIAquick (QIAGEN, США).

Таблица 6. Условия проведения ПЦР с аллель-специфичными праймерами для генов *Btr1-A*, *Btr1-B/Btr1-S* и *Btr1-G*.

Тестируемый аллель/ген	Условия ПЦР					
	Начальная денатурация, t° (мин)	Количество циклов	Денатурация, t° (с)	Отжиг, t° (с)	Элонгация, t° (с)	Финальная элонгация, t° (мин)
<i>Btr1-A</i> <i>Btr1-B/Btr1-S</i> <i>Btr1-G</i>	95 (4)	35	95 (30)	55 (30)	72 (60)	72 (10)

2.4. Метод компьютерного фенотипирования архитектуры колоса

Виды, приведённые в таблице 5, а также формы F₁ гибридов были выращены в гидропонной теплице в контролируемых условиях, виды F₂ гибридов выращивались как в условиях гидропонной теплицы, так и в полевых условиях.

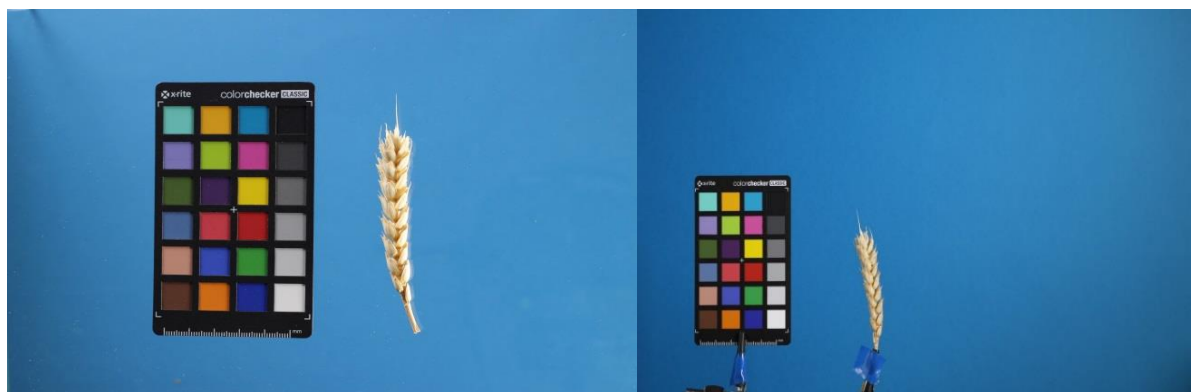
Колосья фотографировали согласно 2 протоколам:

1. Протокол «на столе»: Использование данного протокола предполагает, что колос лежит горизонтально на просветном стеклянном столике. Столик, в свою очередь расположен на предметном столе и стоит на поверхности синего цвета, которая является фоном для будущих изображений. Фотокамера фиксируется в «подвесном» состоянии таким образом, что изображение получается, как «вид сверху». При использовании такого протокола можно получать изображения лицевой поверхности колоса (1 фотография).

2. Протокол «на прищепке»: Использование данного протокола предполагает, что колос закрепляется на штативе вертикально перед синим

фоном. Для получения изображений всех проекций колоса, необходимо перед каждым новым фото поворачивать растение вручную и снова закреплять на штативе. Камера расположена перед столом. При использовании такого протокола можно получать изображения всех проекций колоса (4 фотографии).

В качестве примера на рисунке 4 представлены фотографии *T. aestivum*.



а

б

Рисунок 4. Фото колосьев *T. aestivum* для базы данных (а – протокол «на столе», б – протокол «на прищепке»)

Согласно обоим протоколам, помимо самих колосьев, в область каждого кадра так же помещена цветовая шкала ColorChecker. Её применение обуславливается 2 причинами. Во-первых, в результате различий в условиях освещения, на изображениях можно наблюдать цветовые сдвиги, а благодаря нахождению в кадре цветовой шкалы, можно произвести цветовую коррекцию изображения. Во-вторых, ColorChecker имеет стандартный размер (68×108 мм), а это позволяет оценить масштаб изображения. Исходя из описанного выше, выходит, что для 1 колоса (для 1 растения исследуется главный колос) получается до 5 изображений, снятых согласно двум протоколам. После фотографирования образцов растений пшеницы, полученные фотографии помещали в базу данных, где они дополнительно обрабатываются программами анализа изображений.

2.5. Оценка количественных характеристик колосьев

Колос пшеницы на изображении можно описать тремя различными моделями, которые были предложены М.А. Генаевым с соавт. [65]. Друг от друга эти модели отличаются набором вводимых признаков, а также принципом описания.

1. Модель сечений – Осевая линия колоса делится на 21 отрезок (21-ый – верхушка колоса) и для каждого отрезка строится перпендикуляр (сечение). Происходит подсчёт расстояния от осевой линии колоса до пикселей контура колоса. Т.к. происходит измерение расстояний с обеих сторон – модель описывается 40 параметрами.
2. Радиальная модель – Из центра осевой линии колоса проводится 360 лучей, с шагом в 1 градус. Исходя из центра, каждый луч, дойдя до контура колоса рассматривается как отрезок – модель описывается 360 отрезками.
3. Модель четырёхугольников – Контур колоса, лежащий горизонтально описывается двумя четырёхугольниками, а осевая линия колоса является их общим основанием – модель описывается 9 параметрами.

Изучив и протестировав все 3 модели, был сделан вывод об итоговом применении в данной работе модели четырёхугольников, как наиболее подходящей и адекватной для процесса описания колоса.

Для анализа изображений колосьев и всесторонней оценки количественных характеристик колоса использовалась программа WERecognizer [65]. Применение этой программы позволяет распознать колос, построить для него осевую линию, выпрямить контур колоса (если стержень изогнут), измерить его длину, а далее – представить контур колоса в виде нескольких моделей, которые описывают его форму (см. выше). На рисунке 5 представлен пшеничный колос, описанный моделью двух четырёхугольников. Для верхнего четырёхугольника

используются параметры x_{u1} , x_{u2} , y_{u1} , y_{u2} , а для нижнего - x_{b1} , x_{b2} , y_{b1} , y_{b2} ; помимо этого, общим параметром для обеих фигур является длина колоса. Таким образом, суммарно геометрия колоса описывается 9 независимыми параметрами. Дополнительно к вышеназванным, программа подсчитывает общие характеристики размера и формы колоса, а также параметры его остистости.

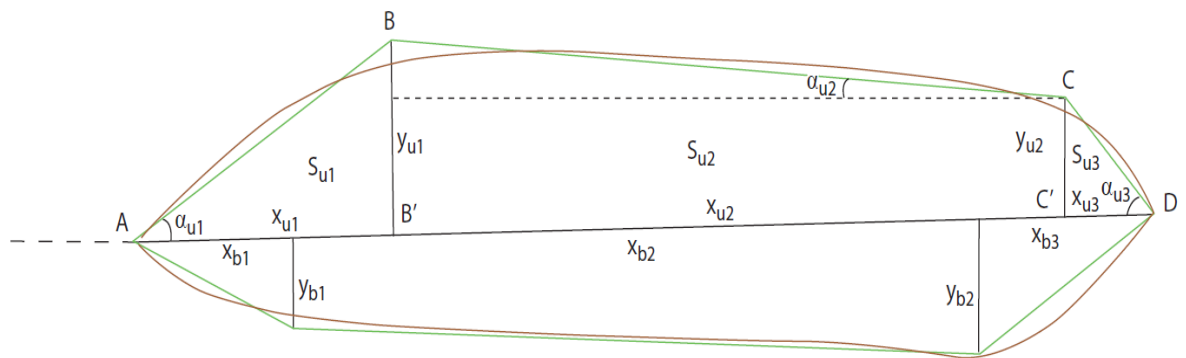


Рисунок 5. Визуализация формы колоса с помощью методов 4-угольников

Примечание: Черной горизонтальной линией обозначена осевая линия колоса. Его контур показан коричневой линией. Четырехугольники, аппроксимирующие контур колоса, отмечены зелеными линиями. Штриховая линия слева – его основание. Для верхнего четырехугольника указаны основные параметры, характеризующие его геометрию. Аналогичные параметры определяются и для нижнего четырехугольника

Для предсказания индекса плотности колоса, а также для описания его формы и остей, были отобраны наиболее информативные признаки модели. Помимо некоторых признаков, описанных на рисунке 5 (x_{u2} , y_{b2} - описывающие ширину отдельных сегментов колоса; x_{b2} , y_{u2} - описывающие длину отдельных сегментов колоса), были выбраны признаки, дающие комплексное представление о морфологии (фенотипе) колоса. Сюда вошли признаки, описывающие форму колоса (Circularity, Roundness), его физические размеры (Perimeter, Rachis length), а также площадь остей (Awns area) (таблица 7).

Таблица 7. Обзор используемых в анализе, количественных признаков колоса

Признак	Описание	Размерность
Awns area	Площадь остей	мм ²
Circularity	Индекс округлости равен отношению периметра окружности с площадью, равной площади контура, к периметру контура. Индекс отражает, насколько форма контура близка к форме окружности. Значение варьирует от 0 до 1	Безразмерная
Roundness	Индекс закругленности равен отношению площади контура к площади окружности с диаметром, равным осевой линии колоса	
Perimeter	Периметр контура колоса без остей	мм
Rachis length	Длина ломаной линии вдоль оси сложного колоса (линии оси колоса)	
X _{u2}	Параметр модели четырехугольников, связанный с длиной левой центральной части колоса (вверху на рис. 2)	
X _{b2}	Параметр модели четырехугольников, связанный с длиной правой центральной части колоса (внизу на рис. 2)	
Y _{u2}	Расстояние от вершины С до ее проекции С' на основание AD (см. рис. 2)	
Y _{b2}	Параметр модели четырехугольников. Среднее значение высоты правого (нижнего) четырехугольника	

С помощью нелинейного алгоритма снижения размерности t-SNE (t-distributed stochastic neighbor embedding; Maaten, Hinton, 2008), было изучено распределение колосьев в пространстве по ряду изучаемых признаков. Данный метод позволяет визуализировать многомерные данные таким образом, что отображает объекты из многомерного пространства в пространство меньшей размерности, а именно: 2-/3-мерное. Суть данного метода заключается в том, что, не смотря на уменьшение размерности пространства - сохраняются относительные попарные расстояния между объектами. Достоинство метода - склонность к локализации изолированных плотных пространственных структур произвольной геометрии. В данном исследовании метод t-SNE был использован для ординации изображений колосьев, причём каждое изображение одной из проекций колоса рассматривалось как отдельный объект [18].

2.6. Оценка качественных характеристик колосьев

Оценка качественных характеристик колоса поддаётся визуальной оценке и не требует каких-либо дополнительных методов. Были изучены следующие признаки: форма колоса, ветвистоколосьность, остистость/безостость, тетраостость, ломкость колоса (рисунок 6).

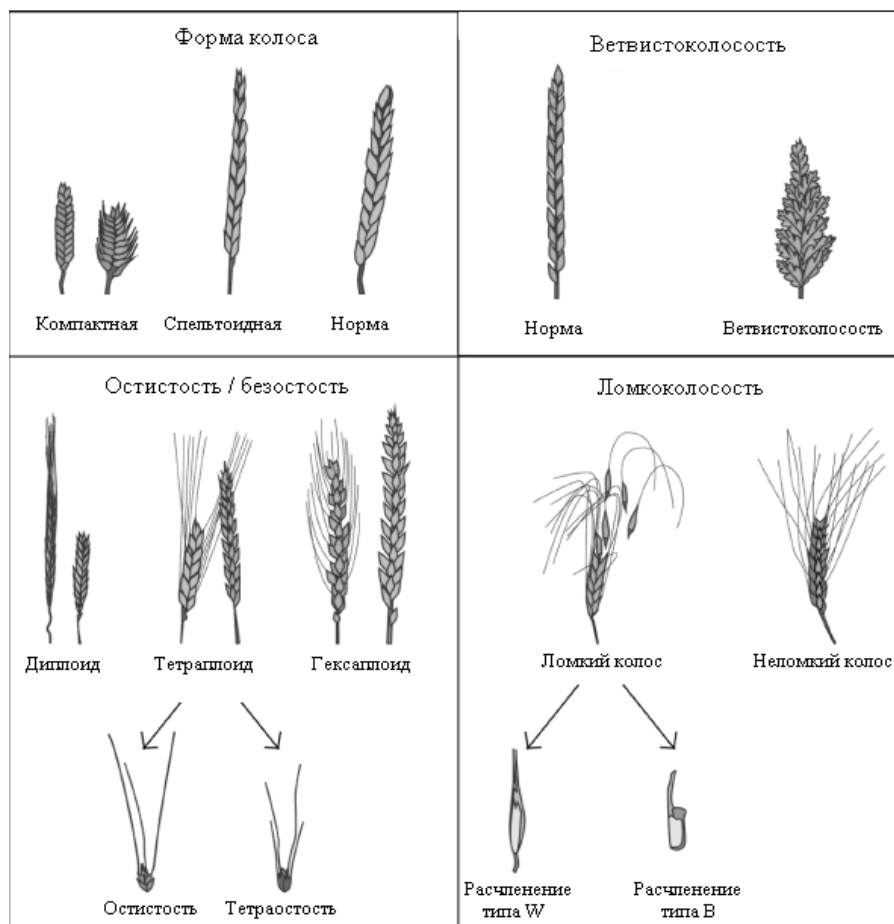


Рисунок 6. Особенности морфологии колоса у пшеницы разного уровня пloidности. Рисунок на основе иллюстрации из работы [23].

2.7. Статистический анализ

Был проведен гибридологический анализ F_2 гибридов тетраплоидной пшеницы в связи с выявлением признаков, по которым в популяции присутствует расщепление для решения классической задачи генетики и

изучения схожести гибридных форм по сравнению с родительскими. Имея доказанную статистически информацию по наследованию видоспецифических признаков, становится возможным более детальное разделение описываемых признаков в БД, где они в дальнейшем будут обрабатываться нейронной сетью. Для проведения анализа потомства F_2 гибридов будет производиться выделение фенотипических классов для дальнейшей обработки.

Соответствие характера расщепления теоретически ожидаемому, анализировалось с помощью метода хи-квадрат (χ^2). Статистическая обработка данных выполнена с использованием программы Excel, версия: 14.0.7128.5000 (32-разрядная). Во всех процедурах статистического анализа критический уровень значимости нулевой гипотезы (p) принимался равным 0.05.

2.8. Метеоусловия в годы проведения экспериментов

Институт цитологии и генетики СО РАН расположен на окраине города Новосибирска, в зоне лесостепи, на берегу Обского водохранилища. Климат Новосибирской области имеет свои особенности, связанные с расположением области в центре материка, а также с характером рельефа региона. Климат континентальный: суровый длительный период зимы и короткий, жаркий, часто засушливый период лета. Особенность климата - высокий приход лучистой энергии и недостаток тепла (продолжительность периода с $t > 0^\circ \text{C} = 185\text{-}195$ дней). В среднем в год, осадков выпадает 300-350 мм, и наибольшее их количество приходится на июль (60-80 мм), в то время, как на зимний период приходится 17-20% годовой суммы осадков. Весенне-летние засухи отрицательно влияют на жизнедеятельность растений.

Описывая почвы, на которых возделываются растения, нужно отметить, что они относятся к типу серых лесных и развиваются на породах, контактирующих с отложениями древней террасы реки Оби, реакция слабокислая. Рассматривая механический состав, можно видеть большое количество фракций крупной

пыли, бесструктурность, слабую водо- и воздухопроницаемость, быструю осадку и уплотнение после обработки, а также склонность к заплыванию и образованию корки. Содержание гумуса в почве относительно небольшое - 3.85%. Наличие лесополос позволяет защитить почву от ветровой эрозии и от выветривания снежного покрова.

2.8.1. Яровой посев (2021г.)

При сравнении среднегодовой нормы и температуры в год исследования, не было обнаружено серьезных отличий (таблица 8, рисунок 7). Самое сильное отклонение от нормы по среднемесячной температуре было в мае (на 3.3 единицы выше нормы). В течении вегетационного периода 2021 г. количество осадков было ниже среднегодового, а месяцем с самым малым количеством осадков был июль (таблица 8, рисунок 8), в то время, как в июне, напротив, осадков выпало чуть больше нормы. Всего за вегетационный период выпало 234 мм, что на 27 мм ниже нормы.

Таблица 8. Температура воздуха и осадки за вегетационный период 2021 года по ГМС "Огурцово"

Температура							Осадки					
Месяц	I декада	II декада	III декада	Ср. месяч.	Норма	Откл. от	I декада	II декада	III декада	Сумма за	Норма	% от нормы
Май	11.5	14.9	16.3	14.2	10.9	+3.3	4	13	8	25	37	68
Июнь	16.7	17.3	14.6	16.2	16.9	-0.7	22	2	48	72	55	131
Июль	20.4	18.8	20.0	19.7	19.4	+0.3	18	4	0	22	59	37
Август	19.8	16.8	17.7	18.1	16.2	+1.9	24	37	6	67	67	100
Сентябрь	13.6	11.2	3.5	9.4	10.0	-0.6	5	30	13	48	43	112

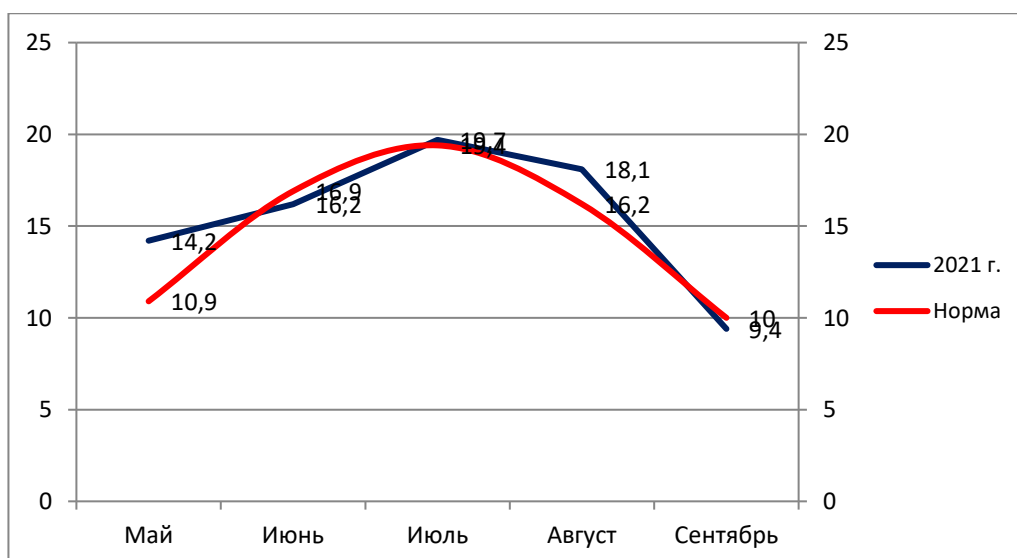


Рисунок 7. Температура за вегетационный период 2021г.

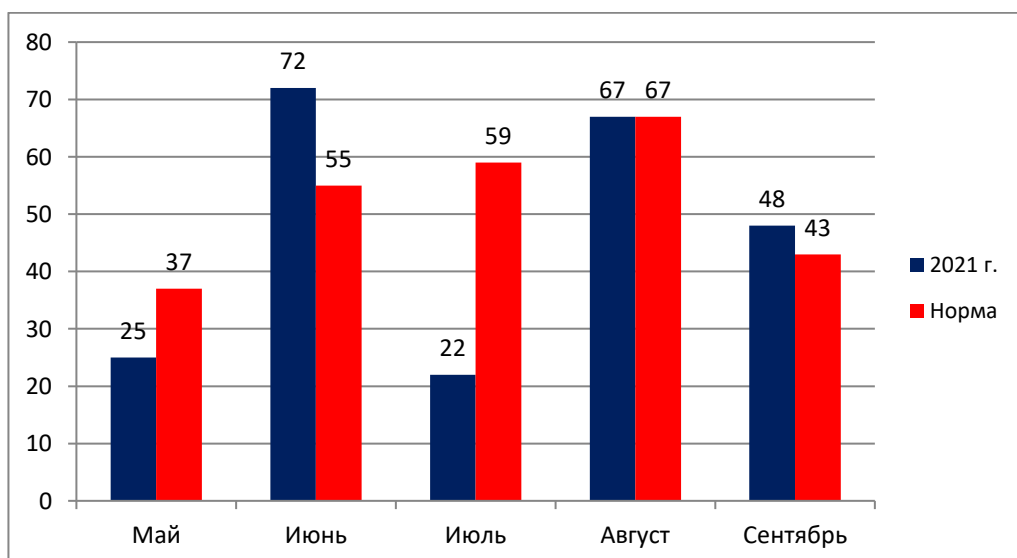


Рисунок 8. Осадки за вегетационный период 2021г., мм

2.8.2. Яровой посев (2022г.)

Также, как и за вегетационный период 2021г., 2022г. не сильно отличался по температуре от среднемноголетней нормы (таблица 9, рисунок 9). Самое сильное отклонение от нормы по среднемесячной температуре было в мае (на 4.5 единицы выше нормы). Всего за 2022г. выпало 151 мм осадков, что на 115 мм

ниже нормы. Самым засушливым из месяцев был май (таблица 9, рисунок 10), однако в июне, осадков выпало чуть больше нормы.

Таблица 9. Температура воздуха и осадки за вегетационный период 2022 года по ГМС "Огурцово"

Температура							Осадки					
Месяц	I декада	II декада	III декада	Ср. месяч.	Норма	Откл. от	I декада	II декада	III декада	Сумма за	Норма	% от нормы
Май	9.2	17.9	19.0	15.4	10.9	+4.5	2	0	1	3	38	8
Июнь	12.0	19.6	20.2	17.3	16.9	+0.4	17	21	22	60	55	103
Июль	18.4	18.3	20.0	18.9	19.5	-0.6	27	1	20	48	68	71
Август	18.8	15.2	15.6	16.5	16.9	-0.4	4	14	5	23	58	40
Сентябрь	15.7	9.6	7.6	11.0	10.3	+0.7	1	2	14	17	47	36

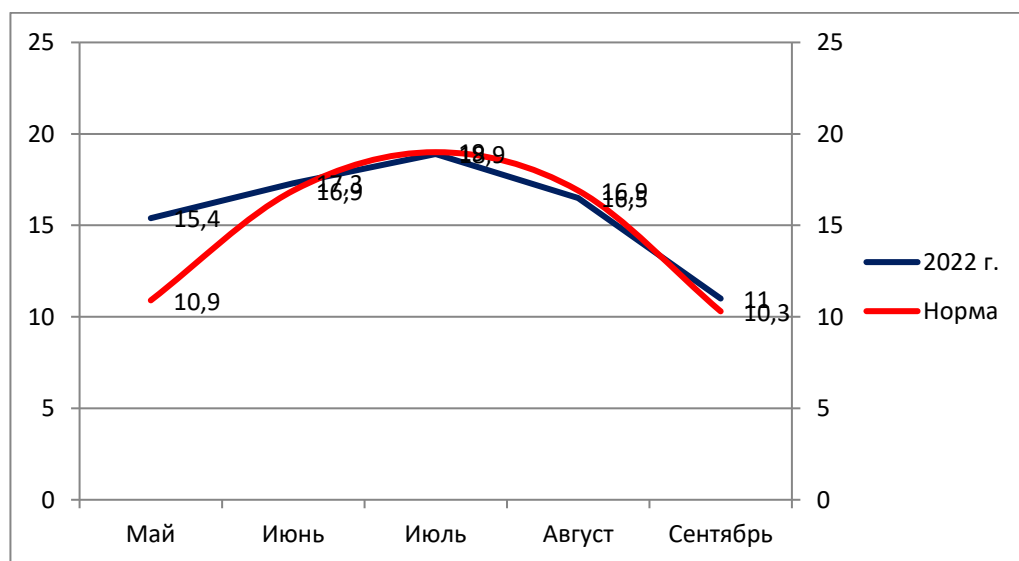


Рисунок 9. Температура за вегетационный период 2022г.

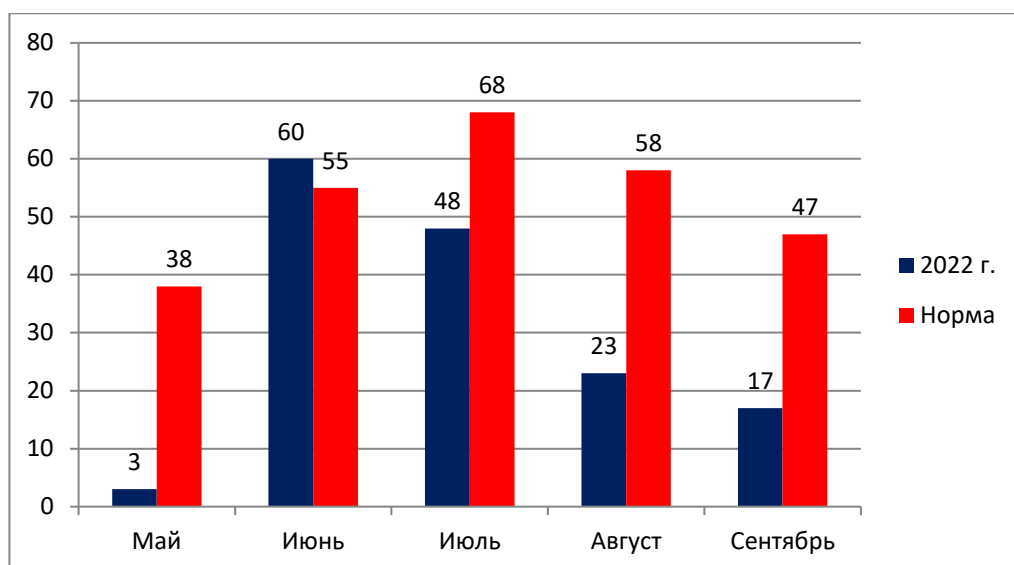


Рисунок 10 Осадки за вегетационный период 2022г., мм

2.8.3. Яровой посев (2023г.)

Вегетационный период 2023г. по температурным показателям не дал больших отличий от среднегодовой нормы (таблица 10, рисунок 11). Самое сильное отклонение от нормы по среднемесячной температуре было в июле (на 2.1 единицы выше нормы). Суммарно за вегетационный период 2023г. выпало 245.2 мм осадков, что является значением ниже нормы (264.3 мм). Самым засушливым месяцем был май (16% осадков от нормы), в то время, как в августе выпало 58 мм осадков, что составляет значение почти в 2 раза больше нормы (таблица 10, рисунок 12).

Таблица 10. Температура воздуха и осадки за вегетационный период 2023 года по ГМС "Огурцово"

Температура							Осадки					
Месяц	I декада	II декада	III декада	Ср. месяч.	Норма	Откл. от	I декада	II декада	III декада	Сумма за декаду	Норма	% от нормы
Май	10.5	9.5	15.2	11.7	11.9	-0.2	1	3	2	6	37.5	16
Июнь	23.4	17.6	15.9	19	17.6	1.4	5	0.4	20	25.4	55.2	46
Июль	21	23.1	20.8	21.6	19.5	2.1	12	16	31	59	67.8	87
Август	20.8	14.9	17.8	17.8	16.9	0.9	0.8	67	43	110.8	58	191
Сентябрь	14	13	8.5	11.8	10.3	1.5	20	0	24	44	45.8	96

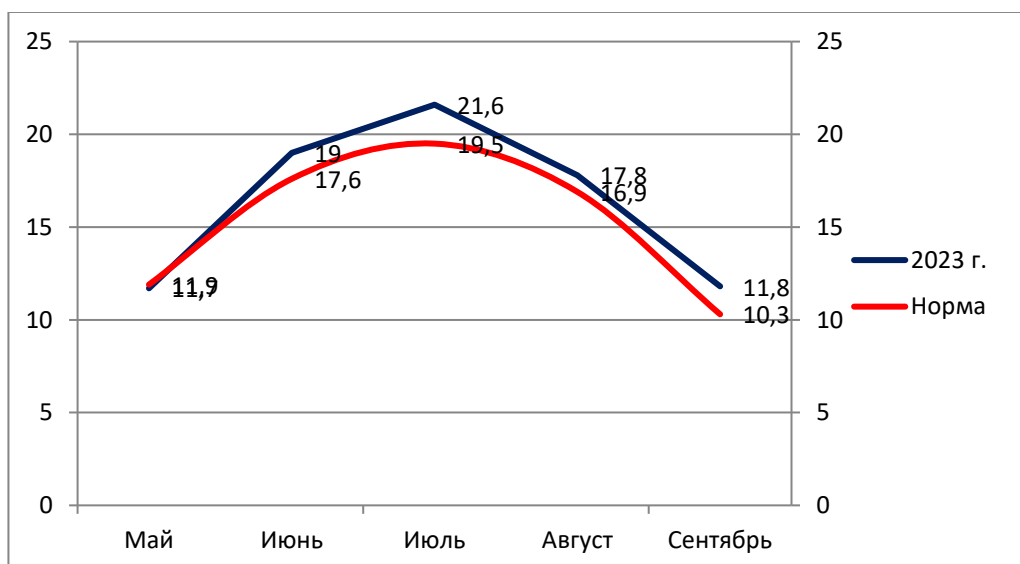


Рисунок 11. Температура за вегетационный период 2023г.

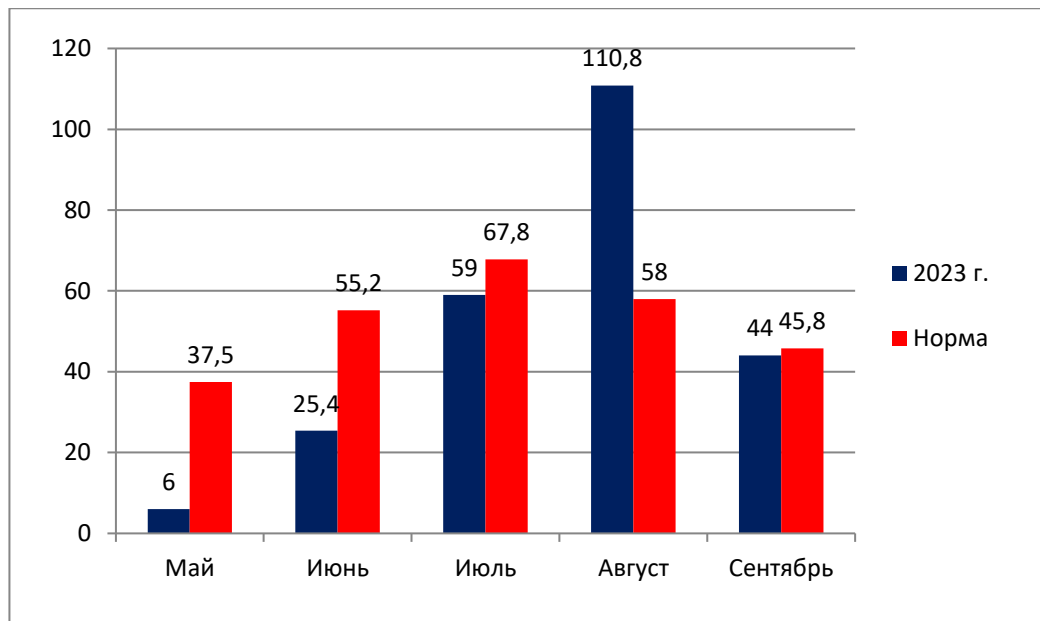


Рисунок 12. Осадки за вегетационный период 2023г., мм

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ

3.1. Фенотипирование архитектуры формы колоса

Задачей первого этапа настоящего исследования являлось выявление таксономически значимых морфологических признаков на трёх уровнях плоидности пшениц, их количественная характеристика и оценка возможности использования для автоматизированного определения видов. Для успешной реализации поставленной задачи возникла потребность в применении современных аналитических методов для корректной оценки морфометрии колоса пшеницы. На основании использования алгоритмов предполагалось осуществить распределение образцов пшеницы по признакам, провести фенотипирование видоспецифических признаков пшеницы, определяющих архитектуру колоса.

3.1.1. Оценка точности компьютерного фенотипирования колоса

Для реализации машинного обучения в задаче предсказания формы колоса (спельта, норма, компактный) образцы растений были оценены вручную. Далее, изображения колосьев обрабатывались путём их изучения в качестве различных моделей (модель сечений, 4-угольников и радиальная модель). Далее, производилась оценка точности предсказания формы колоса.

Таблица 11. Оценка точности компьютерного фенотипирования формы колоса для протоколов «на столе» и «на прищепке».

Метрика точности/метод предсказания	Протокол «на прищепке»	Протокол «на столе»
<i>F</i> /лог. регрессия	0.82	0.78
<i>F</i> /случ. лес	0.85	0.72

Примечание. F /лог. регрессия и F /случ. лес – F мера точности классификации типа формы колоса методами логистической регрессии и случайного леса.

При автоматической классификации колоса на три типа наилучшее значение меры качества классификации F для изображений, полученных согласно протоколу «на столе» с использованием логистической регрессии составило 0.78 (таблица 11), а при анализе четырех проекций колоса – 0.85 (случайный лес) (таблица 11). Чем выше F , тем меньше ошибок в идентификации объектов на изображении. В случае, если все объекты будут идентифицированы верно, F -мера равна 1.

В результате проведенного исследования использован стандартный алгоритм (рисунок 13), позволяющий предсказывать по форме колоса тип плоидности пшениц [65]. Изображения колосьев помещались в БД и обрабатывались по признакам. В ходе обработки применялась свёрточная нейронная сеть, которая решала задачу сегментации изображения на области, принадлежащие фону, колосу и остям колоса. Область тела колоса используется для вычисления контура колоса, далее строится осевая линия колоса, аппроксимирующая его стержень и дающая возможность определить его длину. На основе осевой линии и контура колоса строится профиль сечений, позволяющих «выпрямить» колос, т.е. перейти к характеристикам формы колоса, на которые не оказывает влияние его изогнутость.

Распознавание отдельных колосков в колосе осуществляется с помощью решения задачи сегментации. Разметка осуществляется вручную (обозначение набора точек – центров отдельных колосков). На основе сделанной разметки создаются простые маски отдельных колосков, аппроксимированные окружностью заданного радиуса (в мм, на основе масштаба Colorchecker), апробируется более сложная модель аппроксимации отдельных колосков с использованием эллипсов. В этом случае центры эллипсов соответствуют координатам ручной разметки, а угол поворота эллипса вычисляется на основе положения колоска относительно осевой линии колоса.

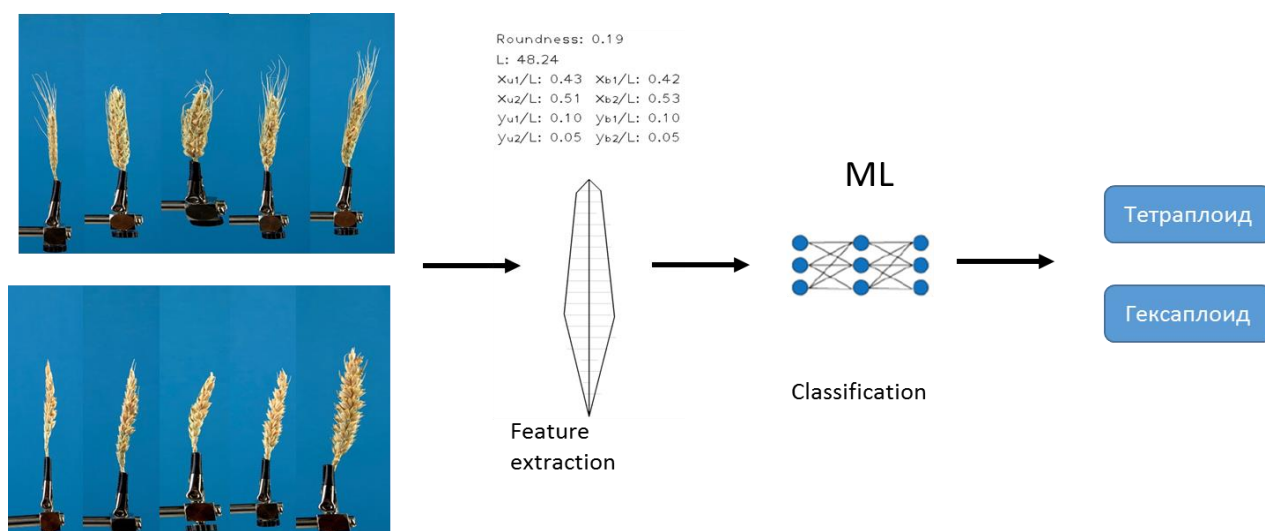


Рисунок 13. Используемый алгоритм для предсказания типов плоидности.
Рисунок на основе иллюстрации из работы [65].

Примечание. Roundness, x_{u2} , x_{b2} , y_{u2} , y_{b2} – см. таблицу 7; L – длина, мм; Feature extraction – выделение признаков; ML – машинное обучение; Classification – классификация.

3.1.2. Распределение образцов по признакам и ординация цифровых изображений

При анализе тетраплоидных видов пшениц по признаку «площадь остей» получаем, что к остистым относятся виды *T. aethiopicum*, *T. dicoccum*, *T. durum*; к умеренно остистым - *T. dicoccoides*, *T. polonicum*, *T. timopheevii*, *T. turgidum*; к безостым относится только 1 вид - *T. militinae* (среднее значение параметра 24.09 мм²). Среди тетраплоидных пшениц распространённость остистых видов (образцов) заметно больше, чем у гексаплоидных.

При изучении признака «длина колоса» (рисунок 14) можно заключить, что колосья распределяются на 3 группы, а именно: короткие (длина < 60 мм), средние (60-90 мм) и длинные (> 90 мм). Несмотря на то, что граница между видами с длинными и средними колосьями довольно условная, можно назвать виды, относящиеся к каждой из 3 групп. Среди гексаплоидных пшениц к видам с коротким колосом относятся: *T. compactum*, *T. antiquorum*, *T. sphaerococcum*.

Группа среднеколосых пшениц включает *T. aestivum*, *T. yunnanense*, *T. spelta* cv. Rother Sommer Kolben и *T. macha*. Длинноколосые гексаплоидные пшеницы представлены 3 видами: *T. spelta*, *T. petropavlovskii* и *T. vavilovii*.

Для видов тетраплоидной пшеницы к короткоколосым относятся *T. dicoccum*, *T. durum*, *T. timopheevii* и *T. militinae*; к среднеколосым - *T. aethiopicum*, *T. dicoccoides*, *T. polonicum* и *T. turgidum*; а в категорию длинноколосых не попал ни один тетраплоидный вид пшеницы.

На рисунке 14а показано распределение образцов тетра- и гексаплоидных видов пшениц по признаку «длина колоса», а на рисунке 14б - распределение периметра тела колоса - параметра, который также характеризует размер колоса.

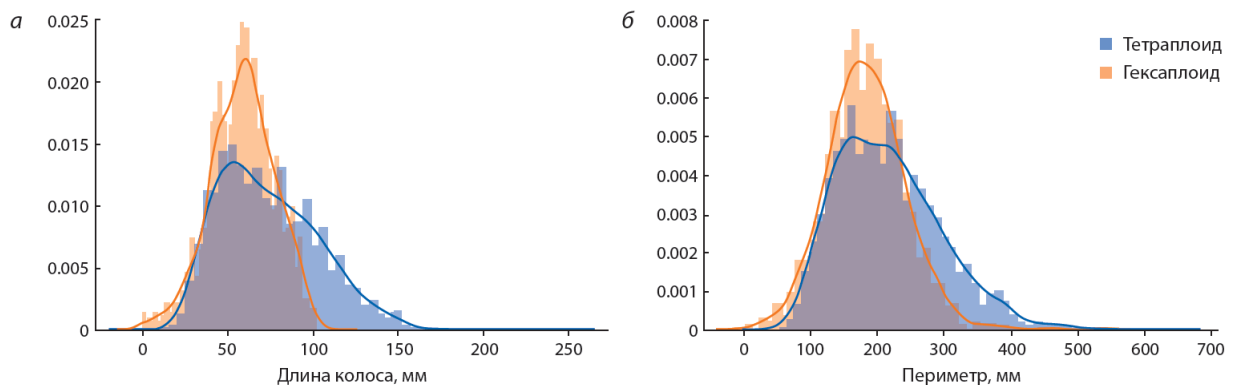


Рисунок 14. Распределение признаков «длина» (а) и «периметр» (б) колоса у пшениц разных уровней плоидности.

Примечание. Тетраплоидные виды пшеницы – синий цвет; гексаплоидные виды – оранжевый.

С использованием метода t-SNE было осуществлено нелинейное отображение признаков колосьев из пространства 9 геометрических характеристик (таблица 7) в двумерное пространство обобщённых параметров. Визуализация результатов этого анализа представлена на рисунках 15 и 16. На рисунке 15 каждая точка представляет собой одно из проанализированных изображений колосьев. Точки окрашены двумя цветами в соответствии с уровнем плоидности растений, а именно, синий - тетраплоидные виды, оранжевый – гексаплоидной. На рисунке 16 каждому изображению колоса

соответствует точка, форма и окраска которой определены в соответствии с принадлежностью растения к определённому виду.

Следует отметить, что представленные на рисунках 15 и 16 диаграммы, дают возможность продемонстрировать разнообразие колосьев пшениц по различным характеристикам как между уровнями пloidности, так и между видами.

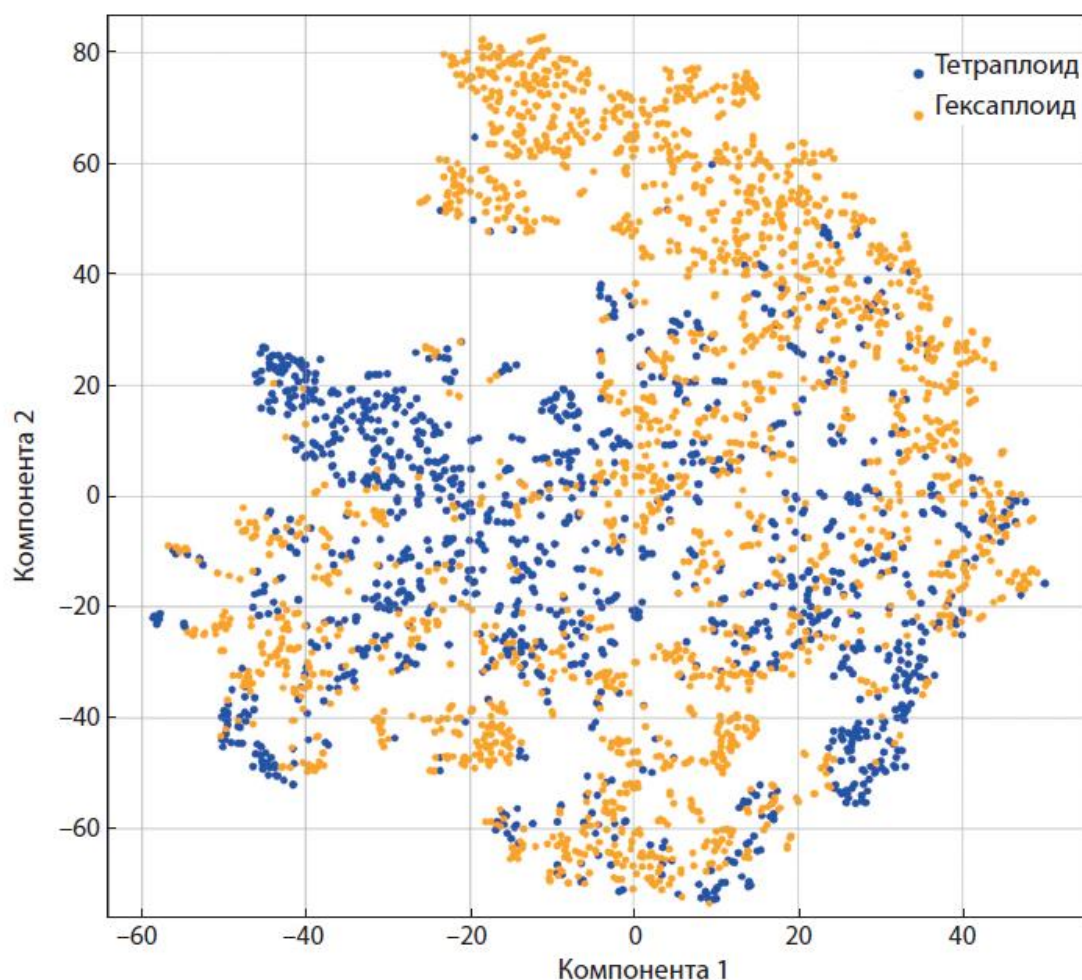


Рисунок 15. Ординация цифровых изображений колосьев ряда генотипов при помощи метода t-SNE, полученная на основании количественных признаков из таблицы 7.

Примечание: тетраплоидные виды пшеницы – синий цвет, гексаплоидные – оранжевый.

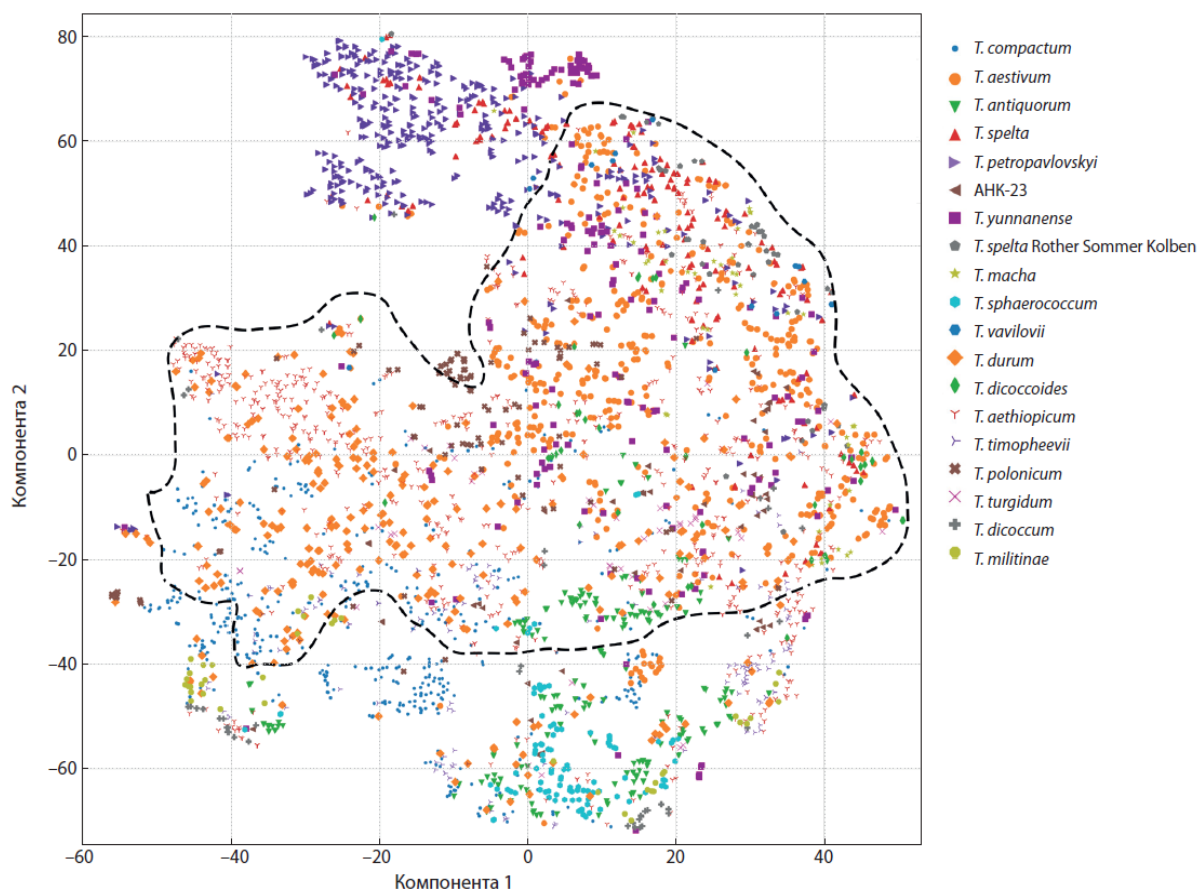


Рисунок 16. Ординация цифровых изображений колосьев ряда генотипов при помощи метода t-SNE, полученная на основании количественных признаков из таблицы 7.

Примечание: цвет и форма каждой точки соответствуют определенному виду. Штриховой линией отмечена область, занимаемая видами *T. aestivum* и *T. durum*.

3.1.3. Фенотипирование видоспецифических признаков пшеницы

Суммарно по всем вегетациям, на основании проделанной работы, полученные результаты, представлены в таблице 12.

Таблица 12. Число образцов, колосьев и фотографий, сделанных на основании имеющегося материала.

	Вид пшеницы	Число образцов	Число колосьев	Число фото
Диплоидные виды пшеницы ($2n = 2x = 14$)				
	<i>T. monococcum</i>	18	131	655
	<i>T. urartu</i>	10	25	125
	<i>T. boeoticum</i>	7	29	145
	<i>T. sinskajae</i>	1	1	5
Σ		36	186	930
Тетраплоидные виды пшеницы ($2n = 4x = 28$)				
	<i>T. dicoccoides</i>	18	116	580
	<i>T. timopheevii</i>	21	165	825
	<i>T. durum</i>	24	218	1090
	<i>T. aethiopicum</i>	29	262	1310
	<i>T. dicoccum</i>	19	167	835
	<i>T. carthlicum</i>	20	164	820
	<i>T. polonicum</i>	18	165	825
	<i>T. turgidum</i>	14	127	635
	<i>T. turanicum</i>	1	8	40
	<i>T. araraticum</i>	1	10	50
	<i>T. militinae</i>	1	8	40
Σ		166	1410	7050
Гексаплоидные виды пшеницы ($2n = 6x = 42$)				
	<i>T. vavilovii</i>	4	33	165
	<i>T. macha</i>	8	60	300
	<i>T. aestivum</i>	11	126	630
	<i>T. antiquorum</i>	2	17	85
	<i>T. compactum</i>	3	27	135

Таблица 12. Число образцов, колосьев и фотографий, сделанных на основании имеющегося материала.

	Вид пшеницы	Число образцов	Число колосьев	Число фото
	<i>T. petropavlovskiy</i>	8	74	370
	<i>T. yunnanense</i>	5	46	230
	<i>T. spelta</i>	4	38	190
	<i>T. sphaerococcum</i>	2	20	100
	<i>T. tibetanum</i>	1	4	20
	<i>T. timococcum</i>	1	8	40
	<i>T. kiharae</i>	1	5	25
	<i>T. dimococcum</i>	1	10	50
	<i>T. zhukovskyi</i>	1	11	55
Σ		52	479	2395
Октаплоидные виды пшеницы ($2n = 8x = 56$)				
	<i>T. soveticum</i>	1	6	30
	<i>T. flaksbergeri</i>	1	9	45
Σ		2	15	75
Декаплоидные виды пшеницы ($2n = 10x = 70$)				
	<i>T. borisovii</i>	1	7	35
Σ		1	7	35
Изученные F ₁ гибриды				
Σ		112	581	2905
Изученные F ₂ гибриды				
Σ		32	1623	8115
Σ Σ		401	4301	21505

Анализируя результаты, можно заметить, что число образцов ди-, окта- и декаплоидной пшеницы суммарно невелико, в связи с тем, что коллекция

пшениц этого уровня плоидности не превышает 4, 3 и 1 вида, соответственно (таблица 1).

Тетраплоидные виды пшеницы являются самой многочисленной группой в роде *Triticum* L. и в нашем исследовании. Наследование видоспецифических признаков у данных видов является плохо изученным и требует скрупулёзного детального изучения.

Образцов гексаплоидных пшениц в роде меньше, по сравнению с тетраплоидными. Видоспецифические признаки гексаплоидной пшеницы изучены хорошо [120].

Суммируя изученный в данной работе материал по всем видам пшеницы, а также F_1 и F_2 гибридов, получаем: 401 образец = 4301 колос = 21505 фото.

Сравнивая таблицу 1 и таблицу 12, видно, что не все виды из таблицы 1 попали в исследование. Это произошло в связи с тем, что некоторые виды пшеницы являются достаточно редкими и отсутствуют в коллекции лаборатории (*T. ispahanicum*).

Целью данного этапа исследования стало создание и аннотирование ЦК колосьев видов пшеницы. На настоящий момент в неё вошли виды пшеницы из таблицы 12.

Среди всего многообразия признаков, которыми характеризуются растения пшеницы, в ЦК колосьев были введены лишь некоторые из них, являющиеся видообразующими и таксономически значимыми, а именно: спельтоидность, компактность, круглозёрность, ветвистоколосость, а также наличие/отсутствие остей. Эти признаки являясь главными видоспецифичными, классификационными и апробационными признаками позволяют эффективно разделять виды между собой. По описанным выше признакам у гексаплоидных пшениц выявлен следующий генетический контроль (рисунок 17).

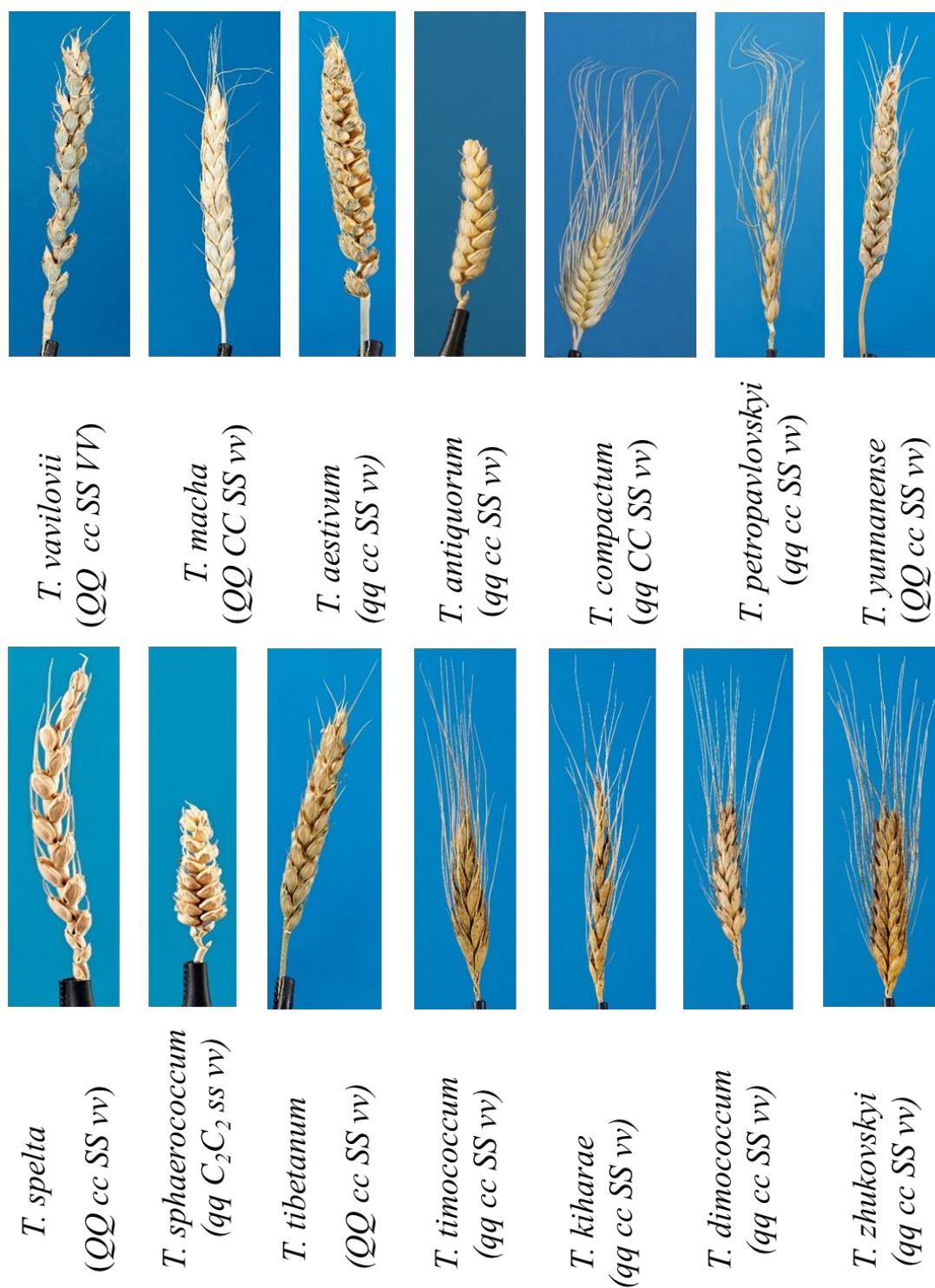


Рисунок 17. Гексаплоидная пшеница ($2n = 6x = 42$).

Примечание. *q* – неспельтоидный / *Q* – спельтоидный, *c* – некомпактный / *C₂* – компактный, *s* – круглозёрный / *S* – нормальный, *v* – неветвистоколосый / *V* – ветвистоколосый.

В то же время, видоспецифические признаки тетраплоидных пшениц, имеют иной генетический контроль (рисунок 18).

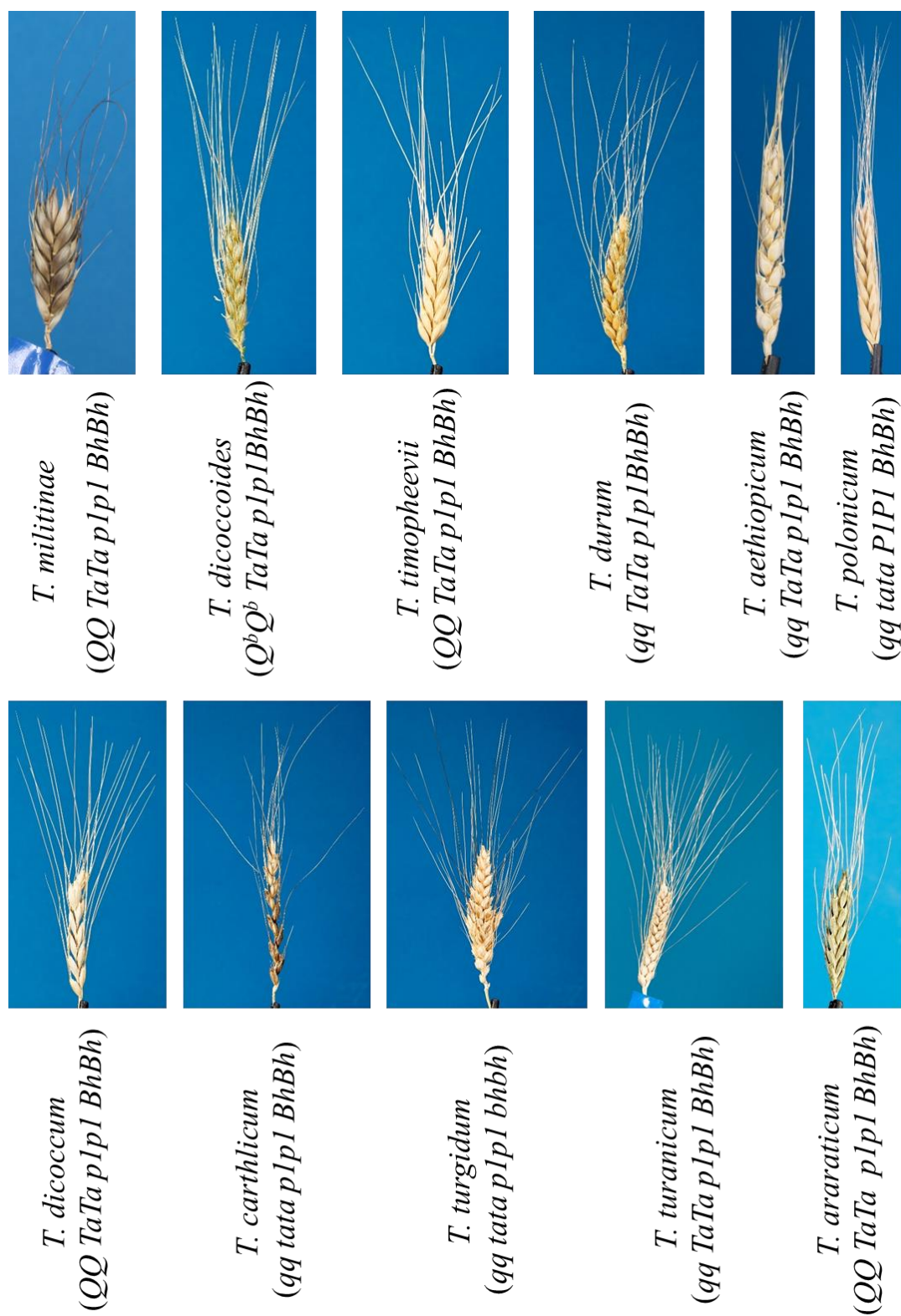


Рисунок 18. Тетраплоидная пшеница ($2n = 4x = 28$).

Примечание. Буквами в таблице обозначены *q* – неспельтоидный / *Q* – спельтоидный, *ta* – тетраостый / *Ta* – нормальный, *p1* – нормальный / *P1* – поломникумность, *bh* – ветвистоколосый / *Bh* – нормальный.

Диплоидная пшеница ($2n = 2x = 14$)



T. monococcum



T. urartu



T. boeoticum



T. sinskajae

Октаплоидная пшеница
($2n = 8x = 56$)



T. flaksbergieri



T. soveticum

Декаплоидная пшеница
($2n = 10x = 70$)



T. borisovii

Рисунок 19. Ди- ($2n = 2x = 14$), окта- ($2n = 8x = 56$) и декаплоидные ($2n = 10x = 70$) виды пшеницы.

Заключение по разделу 3.1. Главы 3. Результаты

Таким образом, использование современных аналитических методов исследования морфометрии колоса пшеницы позволило установить оптимальную точность меры F для изображений при автоматической классификации колоса на три типа: по протоколу «на столе» с использованием логистической регрессии – 78 %, по протоколу «на прищепке» с применением алгоритма Random Forest – 85 %. В результате проведенного исследования составлен алгоритм, позволяющий предсказывать по форме колоса тип плоидности пшениц. Распознавание отдельных колосков в колосе осуществлено с помощью решения задачи сегментации.

Метод t-SNE обеспечил визуализацию процесса распределения изображений колосьев при анализе тетраплоидных видов пшениц по признакам «площадь остей», «длина колоса», «периметра тела колоса». Диаграммы, представленные на рисунках 15 и 16 дают возможность продемонстрировать разнообразие колосьев пшениц по различным характеристикам как между группами плоидности, так и между видами.

С использованием данных методов произведено фенотипирование видоспецифических признаков пшеницы по всем вегетациям. Среди всего многообразия признаков, которыми характеризуются растения пшеницы, в ЦК колосьев видов пшениц были введены лишь некоторые из них, являющиеся видообразующими и таксономически значимыми, а именно: спельтоидность, компактность, круглозёрность, ветвистоколосость, а также у ряда видов наличие/отсутствие остей. Тетраплоидные виды пшеницы являются самой многочисленной группой в нашем исследовании, в связи с тем, что наследование видоспецифических признаков у данных видов является плохо изученным и требует дальнейшего изучения, что определило второй этап настоящей работы.

3.2. Изучение наследования видоспецифических признаков у тетраплоидных ($2n = 4x = 28$) видов пшениц

Актуальность изучения наследования видоспецифических признаков у тетраплоидных видов пшениц определяется недостаточностью информации по данному вопросу и значимостью ее для создания ЦК колосьев видов пшениц. На данном этапе исследования предполагалось проведение гибридологического анализа и изучение в F_1 и F_2 гибридов наследования видоспецифических признаков у *T. aethiopicum*, *T. durum*, *T. dicoccum*, *T. polonicum* и *T. carthlicum*. Поскольку ломкоколосость одна из наиболее важных эволюционных особенностей злаков, которая обеспечивает естественное рассеивание семян и успешное распространение вида, отдельный фрагмент данной главы посвящен ее изучению. Так как в контроле этого значимого признака пшеницы участвует система генов *Btr1* (Non-brittle rachis 1), в меньшей степени изученная у пшениц, в настоящем исследовании сделан акцент на идентификацию аллелей генов *Btr1-A*, *Btr1-B*, а также на изучение последовательности генов *Q* и *Btr*, отвечающих за доместикацию у тетраплоидных видов пшениц.

Для поиска надежных признаков у тетраплоидных видов пшеницы, которые могут быть эффективно использованы при создании ЦК колосьев, проведён гибридологический анализ. В таблице 13 представлен объём проведённых скрещиваний F_1 гибридов, а в таблице 14 – F_2 гибридов.

Таблица 13. Гибридные формы F₁.

♀ / ♂	<i>T. dicoccoides</i>	<i>T. durum</i>	<i>T. aethiopicum</i>	<i>T. dicoccum</i>	<i>T. timopheevii</i>	<i>T. carthlicum</i>	<i>T. polonicum</i>	<i>T. turgidum</i>
<i>T. dicoccoides</i>	-			+	+	+	+	
<i>T. durum</i>	+	-	+	+	+	+	+	+
<i>T. aethiopicum</i>	+	+	-	+	+	+	+	+
<i>T. dicoccum</i>	+	+	+	-	+	+	+	+
<i>T. timopheevii</i>	+	+	+	+	-	+	+	+
<i>T. carthlicum</i>		+	+	+	+	-	+	+
<i>T. polonicum</i>	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>T. turgidum</i>	+	+	+	+	+	+	+	-

Примечание к таблицам 13 и 14: на пересечении ячеек знак «+» - скрещивание удалось; знак «-» - скрещивания нет, т.к. ♀ и ♂ один и тот же вид; пустая ячейка – скрещивание не удалось.

Также, были получены гибридные формы F₂, а именно:

Таблица 14. Гибридные формы F₂.

♀ / ♂	<i>T. dicoccoides</i>	<i>T. durum</i>	<i>T. aethiopicum</i>	<i>T. dicoccum</i>	<i>T. timopheevii</i>	<i>T. carthlicum</i>	<i>T. polonicum</i>	<i>T. turgidum</i>
<i>T. dicoccoides</i>	-							
<i>T. durum</i>	+	-		+			+	+
<i>T. aethiopicum</i>	+		-	+		+	+	
<i>T. dicoccum</i>	+	+	+	-		+		+
<i>T. timopheevii</i>					-			
<i>T. carthlicum</i>				+		-	+	
<i>T. polonicum</i>	+	+	+	+		+	-	
<i>T. turgidum</i>	+							-

3.2.1. Изучение наследования видоспецифических признаков у *T. aethiopicum*

Перечень вегетаций, на протяжении которых производился анализ вида *T. aethiopicum* дан в таблице 15.

Таблица 15. Вегетации, на протяжении которых анализировался вид *T. aethiopicum*

♀	Каталог	♂	Каталог	Число растений
Вегетация X (октябрь)-20 (2020г.)				
<i>T. aethiopicum</i>	К-19296/1	<i>T. dicoccum</i>	к-18969	42
Вегетация X-21				
<i>T. aethiopicum</i>	К-19302	<i>T. dicoccum</i>	к-15840	85
	К-19296/1	<i>T. dicoccoides</i>	PI 467014	17
	К-19301/2	<i>T. polonicum</i>	i:ANDW5AP1	58
Вегетация V-22				
<i>T. aethiopicum</i>	К-19301/2	<i>T. carthlicum</i>	к-32496	185

В таблице 16 представлен характер наследования в F₂ гибридов комбинаций скрещивания, в которых материнской формой взят вид *T. aethiopicum*.

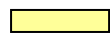
Таблица 16. Анализ наследования видоспецифических признаков, где в качестве материнского растения был взят вид *T. aethiopicum* (♀)

	Форма колоса (норм/спел)	Тип остей	Окраска колоса, Rg (+/-)	Остистость/безостистость	Длина кол. чеш. (норм/удл.)	Тетраостость (+/-)	Зубец (острый/тупой)	Опушение кол. чеш. (+/-)	Плешка (+/-)
♂ <i>T. dicoccum</i>	1.73*	2.22*	8.66	-	-	-	-	-	-
	5.36	-	1.55*	11.46					
♂ <i>T. dicoccoides</i>	0.96*		4.41	0.96*					
♂ <i>T. polonicum</i>	-		0.21*	1.86*	8.30				
♂ <i>T. carthlicum</i>		0,05*	0,69^	-	-	2,55*	0,22#	14,92	10,13

Примечание. Здесь и во всех следующих таблицах этого раздела: на пересечении видов и изученных признаков даётся числовое значение $\chi^2 = 3:1$. k=1, уровень значимости $p < 0.05$ (3.81). * - $\chi^2 = 3:1$; ^ - $\chi^2 = 13:3$; # - $\chi^2 = 15:1$; ‘ - $\chi^2 = 61:3$; “ - $\chi^2 = 63:1$



- доминантное проявление по материнскому типу



- рецессивное проявление по отцовскому типу

Здесь и далее по главе 3.2. помимо скрещиваний, в результате которых идёт расщепление по Менделю ($\chi^2 = 3:1$), получены результаты, где моногенного расщепления (3:1) не выявлено, наследование ($\chi^2 = 13:3$; $\chi^2 = 15:1$; $\chi^2 = 61:3$; $\chi^2 = 63:1$). Такие результаты могут говорить о том, что, вероятно, в данных комбинациях скрещивания имеются гены, контролирующие самонесовместимость, в связи с чем результаты не соответствуют теоретически ожидаемым.

Признаки вида *T. aethiopicum*, взятого в качестве материнского растения, проявили достоверное доминирование в скрещивании с *T. dicoccum* по характеру остей; в одном из скрещиваний с *T. dicoccum* по окраске колоса (т.е. по её наличию/отсутствию); по тетраостости в скрещивании с *T. carthlicum*.

При скрещивании *T. aethiopicum* × *T. dicoccum* форма колоса наследовалась гибридами по отцовскому типу. Тип остей в F₂ гибридов наследовалась от *T. carthlicum*, при скрещивании, где этот вид был взят в качестве отцовской формы. Также от отцовских образцов в F₂ гибридов наследовалась окраска колоса (*T. polonicum*) и остистость/безостость (*T. dicoccoides*, *T. polonicum*).

3.2.2. Изучение наследования видоспецифических признаков у *T. durum*

Перечень вегетаций, на протяжении которых производился анализ вида *T. durum* дан в таблице 17.

Таблица 17. Вегетации, на протяжении которых анализировался вид *T. durum*

♀	Каталог	♂	Каталог	Число растений
Вегетация X-20				
<i>T. durum</i>	K-17784	<i>T. dicoccum</i>	PI 414721	74
	K-17784	<i>T. dicoccum</i>	PI 414721	17
	K-17784	<i>T. dicoccum</i>	PI 414721	28
Вегетация V-21				
<i>T. durum</i>	EGY 7185	<i>T. dicoccum</i>	PI 414721	107
	IOR 9580	<i>T. polonicum</i>	i:ANDW5AP17AL	88
Вегетация X-21				
<i>T. durum</i>	K-17709	<i>T. dicoccum</i>	к-25459	51
Вегетация V-23				
<i>T. durum</i>	K-17709	<i>T. dicoccum</i>	PI 414721	129
	EGY7185	<i>T. turgidum</i>	к-40750	113

В таблице 18 представлен характер наследования в F₂ гибридов комбинаций скрещивания, в которых материнской формой взят вид *T. durum*.

Таблица 18. Анализ наследования видоспецифических признаков, где в качестве материнского растения был взят вид *T. durum* (♀)

	Форма колоса (норм/спел)	Опушение кол. чеш. (+/-)	Дл. кол. чеш. (норм/удл.)	Тип остей	Остистость/безостость	Плечатость/голозерность	Доп. ость (+/-)	Зубец (острый/тупой)	Плечо (+/-)	Ветвистость (+/-)
♂ <i>T. dicoccum</i>	14.83	-	-	7.48	-	-	-	-	-	-
	1.46*	0.88*		5.21						
	0.18*	0.02*		4.41						
	0.76*	0.19*		4.76						
	0.53*	1.10*	5.50	0.53*						
	0,52“	-	-	-		0,52“	1.37*	0.01*	0.13*	
♂ <i>T. polonicum</i>	-		0.06*		4.91	-	-	-	-	
♂ <i>T. turgidum</i>			-	14.87	-			0.03*	0.14*	1.84*

Примечание. * - $\chi^2 = 3:1$; “ - $\chi^2 = 63:1$

Признаки вида *T. durum*, взятого в качестве материнского растения проявили доминирование по нормальной форме колоса в большинстве скрещиваний с *T. dicoccum*; по признаку отсутствие опушения колосковой чешуи в преобладающем числе скрещиваний с *T. dicoccum*; наличие удлиненной колосковой чешуи было характерно для F₂ гибридов, в скрещивании, где в качестве отцовской формы взят вид *T. polonicum* и этот признак наследовался от данного вида; характер остей в скрещивании *T. durum* × *T. dicoccum* наследовался гибридами по отцовскому типу; по отсутствию дополнительной ости на цветковой чешуе при скрещивании с *T. dicoccum*; по отсутствию ветвистости при скрещивании с *T. turgidum*.

3.2.3. Изучение наследования видоспецифических признаков у *T. dicoccum*

Перечень вегетаций, на протяжении которых производился анализ вида *T. dicoccum* дан в таблице 19.

Таблица 19. Вегетации, на протяжении которых анализировался вид *T. dicoccum*

♀	Каталог	♂	Каталог	Число растений
Вегетация X-20				
<i>T. dicoccum</i>	K-25459	<i>T. carthlicum</i>	к-32496	22
Вегетация V-21				
<i>T. dicoccum</i>	K-5154	<i>T. aethiopicum</i>	к-19068/2	75
	K-25459	<i>T. durum</i>	IOR 9580	20
Вегетация V-23				
<i>T. dicoccum</i>	PI 414721	<i>T. durum</i>	к-17709	156
	PI 414721	<i>T. carthlicum</i>	к-13768	156
	к-18969	<i>T. dicoccoides</i>	PI 467014	108
	к-18969	<i>T. turgidum</i>	к-40750	110
	PI 414721	<i>T. aethiopicum</i>	к-19553	145

В таблице 20 представлено расщепление в F₂ гибридов комбинаций скрещивания, в которых материнской формой взят вид *T. dicoccum*.

Таблица 20. Анализ наследования видоспецифических признаков, где в качестве материнского растения был взят вид *T. dicoccum* (♀)

	Форма колоса (норм/спел)	Опушение кол. чеш. (+/-)	Тип остей	Тетраостость (+/-)	Окраска колоса, Rg (+/-)	Бородка (+/-)	Тип кол. чеш.	Зубец (острый/тупой)	Плечо (+/-)	Ветвистость олооса (+/-)	Доп. ость (+/-)
♂ <i>T. aethiopicum</i>	23,68	-	23,68	-	-	-	-	-	-	-	-
	1,22^		0,79^					0,11*	0,83*		
♂ <i>T. durum</i>	-	0,27*	-					-	-		
		-						2,21^	0,03*		0,76^
♂ <i>T. carthlicum</i>		0,06*		1,51*	0,06*			-	-		-
	0,05#	-		26,23	3,01*			1,56*	0,72*		2,32‘
♂ <i>T. dicoccoides</i>	8,26			-	3,38#	8,26	5,87	3,69^	0,16*		-
♂ <i>T. turgidum</i>	0,41^				-	-	-	-	0,01*	0,98*	2,33#

Примечание. * - $\chi^2 = 3:1$; ^ - $\chi^2 = 13:3$; # - $\chi^2 = 15:1$; ‘ - $\chi^2 = 61:3$

При изучении наследования признаков у *T. dicoccum*, где этот вид взят в качестве материнского растения, достоверное доминирование проявилось по ряду признаков, а именно: по наследованию спельтоидной формы колоса при скрещивании с *T. carthlicum* и в одном из скрещиваний с *T. aethiopicum*, по

наличию опушения колосковой чешуи и наличие дополнительной ости при скрещивании с *T. durum*, по характеру остей в одном из скрещиваний с *T. aethiopicum*, а также по отсутствию наследования признака «ветвистоколосость» при скрещивании с *T. turgidum*.

При скрещивании, где в качестве отцовской формы был взят вид *T. carthlicum* в F₂ гибридов наследовалось по отцовскому типу отсутствие опушения колосковой чешуи, наличие тетраостости (в одном скрещивании из двух), наличие окраски колоса, а также отсутствие дополнительной ости на цветковой чешуе. При скрещивании *T. dicoccum* × *T. dicoccoides* в F₂ гибридов наследовался признак отсутствие окраски колоса по отцовскому типу. Также в F₂ гибридов наследовалась нормальная форма колоса, по отцовскому типу, а именно *T. turgidum*.

3.2.4. Изучение наследования видоспецифических признаков у *T. polonicum*

Перечень вегетаций, на протяжении которых производился анализ вида *T. polonicum* дан в таблице 21.

Таблица 21. Вегетации, на протяжении которых анализировался вид *T. polonicum*

♀	Каталог	♂	Каталог	Число растений
Вегетация X-20				
<i>T. polonicum</i>	i:ANDW5BP27BL	<i>T. dicoccum</i>	к-15840	45
	i:ANDW5BP27BL	<i>T. dicoccum</i>	к-15840	21
	i:ANDW5BP27BL	<i>T. dicoccum</i>	к-15840	13
	i:ANDW5BP27BL	<i>T. dicoccum</i>	к-15840	19
Вегетация II-21				
<i>T. polonicum</i>	i:ANDW5BP27BL	<i>T. dicoccoides</i>	PI 467014	106
	i:ANDW5BP27BL	<i>T. dicoccoides</i>	PI 467014	52
Вегетация V-21				
<i>T. polonicum</i>	i:ANDW5AP1	<i>T. aethiopicum</i>	к-19068/2	111
Вегетация V-23				
<i>T. polonicum</i>	i:ANDW5AP1	<i>T. durum</i>	EGY 7185	45
<i>T. polonicum</i>	i:ANDW5AP1	<i>T. carthlicum</i>	к-13768	197

В таблице 22 представлен характер наследования в F₂ гибридов комбинаций скрещивания, в которых материнской формой взят вид *T. polonicum*.

Таблица 22. Анализ наследования видоспецифических признаков, где в качестве материнского растения был взят вид *T. polonicum* (♀)

	Форма колоса (норм/спел)	Борода у основания колосков (+/-)	Длина кол. чеш. (норм/удл)	Окрашка колоса, Rg (+/-)	Опушение кол. чеш. (+/-)	Тетраостость (+/-)	Остистость/безостость	Зубец (острый/тупой)	Плечо (+/-)	Компактность (+/-)
♂ <i>T. aethiopicum</i>	-	-	1,32*	-	-	-	14,30	-	-	-
♂ <i>T. dicoccoides</i>	3,28*	3,28*	0,82*				4,15	2,51*	1,85*	
	1,64*	2,85^	0,41*				0,00*	5,03	0,00*	
♂ <i>T. dicoccum</i>	3,92	-	2,67*				1,67*	1,67*	0,01*	
	0,02*		3,57*				0,78*	1,92*	0,02*	
	0,64*		3,10*				0,23*	0,23*	1,26*	
	0,16*		5,07				0,02*	0,02*	0,44*	
♂ <i>T. durum</i>	-		0,90*				1,25*	-	1,25*	
♂ <i>T. carthlicum</i>			30,84	49,48	49,48	5,12#	36,56		-	15,92

Примечание. * - $\chi^2 = 3:1$; ^ - $\chi^2 = 13:3$; # - $\chi^2 = 15:1$

Анализ наследования видоспецифических признаков *T. polonicum* позволил сделать вывод, что признак нормальная форма колоса, характерный для материнского растения, наследуется в одном из двух скрещиваний с *T. dicoccoides*, а также в одном из четырёх скрещиваний с *T. dicoccum*; в остальных же скрещиваниях F₂ гибридов наследовало спельтоидную форму колоса по отцовскому типу. Признак «наличие борода у основания колосков», характерный для вида *T. dicoccoides* проявился в обеих гибридных комбинациях от скрещивания *T. polonicum* × *T. dicoccoides*. По признаку «удлиненные колосковые чешуи», полученному от материнского растения, F₂ гибридов доминирует при скрещивании с *T. aethiopicum*, *T. dicoccoides*, *T. durum*, а также в одном из скрещиваний с *T. dicoccum* (в двух других скрещиваниях с этим видом, взятым в качестве отцовской формы этот признак достоверно не проявляет доминирования). Признак тетраостости, характерный для отцовского растения *T. carthlicum*, во F₂ гибридов наследовался по материнскому типу (т.е.

гибриды преимущественно не имели тетраостости). Безостость, характерная в данном случае для *T. polonicum* доминирует во всех скрещиваниях с *T. dicoccum*, как и наличие тупого зубца, форма которого также доминирует и в одном из скрещиваний с *T. dicoccoides*. При скрещивании *T. polonicum* × *T. dicoccoides* в одном из двух скрещиваний в F₂ гибридов можно наблюдать проявление остистости, наследуемое по отцовскому типу.

3.2.5. Изучение наследования видоспецифических признаков у *T. carthlicum*

Перечень вегетаций, на протяжении которых производился анализ вида *T. carthlicum* дан в таблице 23.

Таблица 23. Вегетации, на протяжении которых анализировался вид *T. carthlicum*

♀	Каталог	♂	Каталог	Число растений
Вегетация X-20				
<i>T. carthlicum</i>	к-13863	<i>T. dicoccum</i>	к-15840	31
	к-13863	<i>T. dicoccum</i>	к-15840	100
Вегетация I-23				
<i>T. carthlicum</i>	к-7877	<i>T. polonicum</i>	i:ANDW5BP27BL	180

В таблице 24 представлен характер наследования в F₂ гибридов комбинаций скрещивания, в которых материнской формой взят вид *T. carthlicum*.

Таблица 24. Анализ наследования видоспецифических признаков, где в качестве материнского растения был взят вид *T. carthlicum* (♀)

	Форма колоса (норм/спел)	Форма колоса (норм/квадр)	Остистость/безостость	Тетраостость (+/-)	Доп. ость (+/-)	Длина кол. чеш. (норм/удл)	Зубец (острый/тупой)	Плечо (+/-)
♂ <i>T. dicoccum</i>	1,30*	-	-	0,53*	0,01*	-	1,30*	0,01*
	2,61*			0,05*	2,4#		0,05*	0,21*
♂ <i>T. polonicum</i>	-	28,47	3,58*	27,55	-	1,45*	13,07	0,03*

Примечание. * - $\chi^2 = 3:1$; # - $\chi^2 = 15:1$

Анализируя скрещивание, где в качестве материнской формы был взят вид *T. carthlicum*, можно видеть, что признак форма колоса (норма), а также отсутствие дополнительной ости наследуются по материнскому типу, а

отсутствие признака «тетраостость» по отцовскому при всех скрещиваниях с *T. dicoccum*. При скрещивании *T. carthlicum* × *T. polonicum* по всем изученным признакам в F₂ гибридов было отмечено проявление наследования по отцовскому типу.

3.2.6. Изучение ломкоколосости у тетраплоидных видов пшениц (2n=28)

Ломкоколосость - одна из наиболее важных эволюционных особенностей злаков, которая обеспечивает естественное рассеивание семян и успешное распространение вида. Неломкие колосья злаков облегчают сбор урожая и позволяют увеличить урожайность зерна, поэтому отбираются при доместикации и последующем выращивании. В контроле этого важного признака пшеницы, связанного с доместикацией, участвует, помимо других (Q-ген, *Tg*-ген) ген *Btr*, отвечающий за ломкость колоса [38-46]. У пшениц система генов *Btr1* (Non-brittle rachis 1) наименее изучена. В настоящее время известны 4 гена *Btr*, а именно: *Btr1-A*, *Btr1-B*, *Btr1-G*, *Btr1-S* [121]. Последний из вышеназванных характерен для видов эгилопса.

3.2.6.1. Идентификация аллелей гена *Btr1-A*

Для 28 образцов 11 тетраплоидных видов пшеницы были установлены фенотипы ломкого колоса (*T. aethiopicum* Jakubz., *T. carthlicum* Nevski, *T. dicoccoides*, *T. dicoccum* (Schrank) Schuebl., *T. durum*, *T. karamyshevii*, *T. polonicum* L., *T. turanicum*, *T. turgidum*, *T. araraticum* и *T. timopheevii*). Сорт твердой пшеницы Svevo (Италия) был использован в качестве эталона [119]. Для большей части изученных культивируемых тетраплоидных видов пшеницы секции *Dicoccoides* были характерны неломкие колосья (таблица 25). Напротив, образцы культивируемых *T. dicoccum* и *T. timopheevii*, как и их диких предшественников *T. dicoccoides*, *T. araraticum*, соответственно, имели ломкие колосья с разной степенью проявления признака. Колосья *T. dicoccum*, *T.*

karamyshevii и *T. timopheevii* только после механического воздействия подверглись распаданию на колоски.

Произведено амплифицирование полноразмерной кодирующей области *Btr1-A* и 5' и 3' UTR этого гена, таким образом, что длина фрагмента составила ~ 900 п.н. 5' UTR гена *Btr1-A* изученных тетраплоидных видов пшеницы (кроме *T. araraticum* и *T. karamyshevii*) содержат простые повторы последовательности (SSRs) следующей структуры: $(CG)_5C(GA)_4AA(GA)_5$. SSRs образцов *T. karamyshevii* отличаются от вышеупомянутых одной заменой, $(CG)_5A(GA)_4AA(GA)_5$. В образцах *T. araraticum* SSRs длиннее на одном (GA) повторе: $(CG)_5C(GA)_4AA(GA)_6$, в то время как у образцов *T. karamyshevii* SSRs отличаются (рисунок 20).

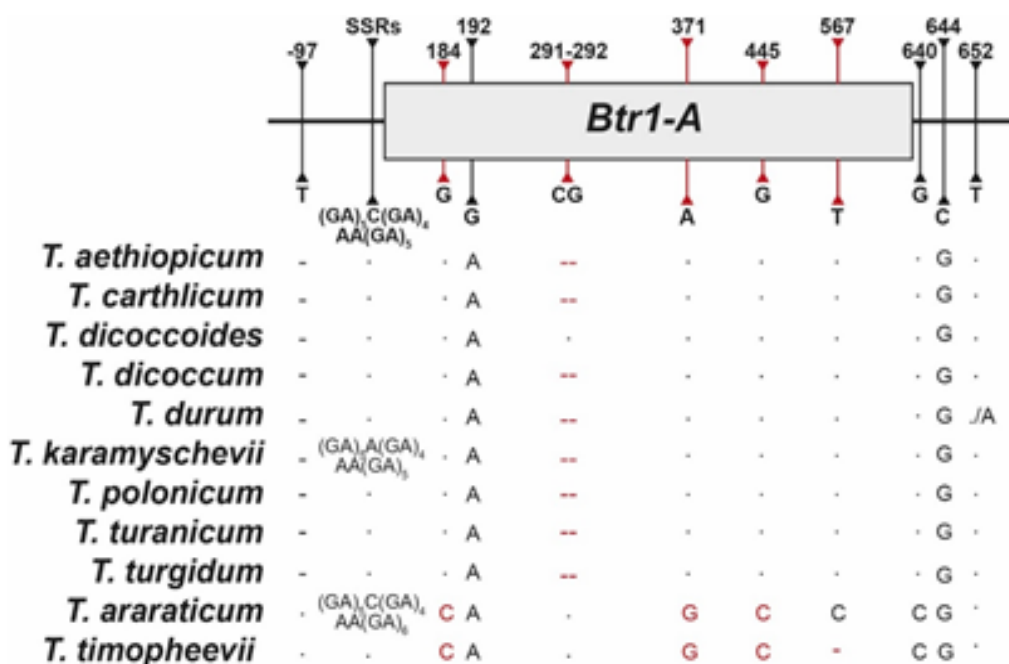


Рисунок 20. Схема аллельной изменчивости *Btr1-A* у тетраплоидных видов пшеницы.

Примечание: Положения нуклеотидов приведены в соответствии с последовательностью *Btr1-A* *T. monosocum* (MG596314). SNP, которые

вызывают аминокислотные замены, выделены красным цветом. Если для определенной позиции указаны нуклеотид и точка, разделенные косой чертой, это означает, что для этой позиции существует межвидовая изменчивость.

3.2.6.2. Идентификация аллелей *Btr1-B*

Получены положительные результаты ПЦР с праймерами, специфичными к *Btr1-B* для всех изученных образцов секции *Dicoccoides* рода *Triticum*, при этом продукты ПЦР варьировали по длине. При проведении сравнительного анализа установлено, что различия в длине обусловлены SSRs в 5' UTR непосредственно перед стартовым кодоном. Кодировая область последовательностей *Btr1-B* *T. aethiopicum*, *T. carthlicum*, *T. dicoccum* и *T. turgidum* была почти идентична аллелю *TtBtr1-B* *T. dicoccoides* (LSYQ02000006). Единственным идентифицированным SNP был синонимичный 384C/A, этот аллель был обозначен как *btr1-B'* (рисунок 21). Однако 5'UTR *Btr1-B* у вышеупомянутых видов отличались, поэтому *T. aethiopicum* 18999, *T. turgidum* Maiorka и *T. dicoccum* i:BS1E имеют мотив (GA)_n длиной более 240 п.н. (идеальное повторение типа). Мотивы (GA)_n в образцах *T. carthlicum* K-7108 и *T. dicoccum* T 11064 были несколько короче, 120 п.н. и 73 п.н., соответственно.

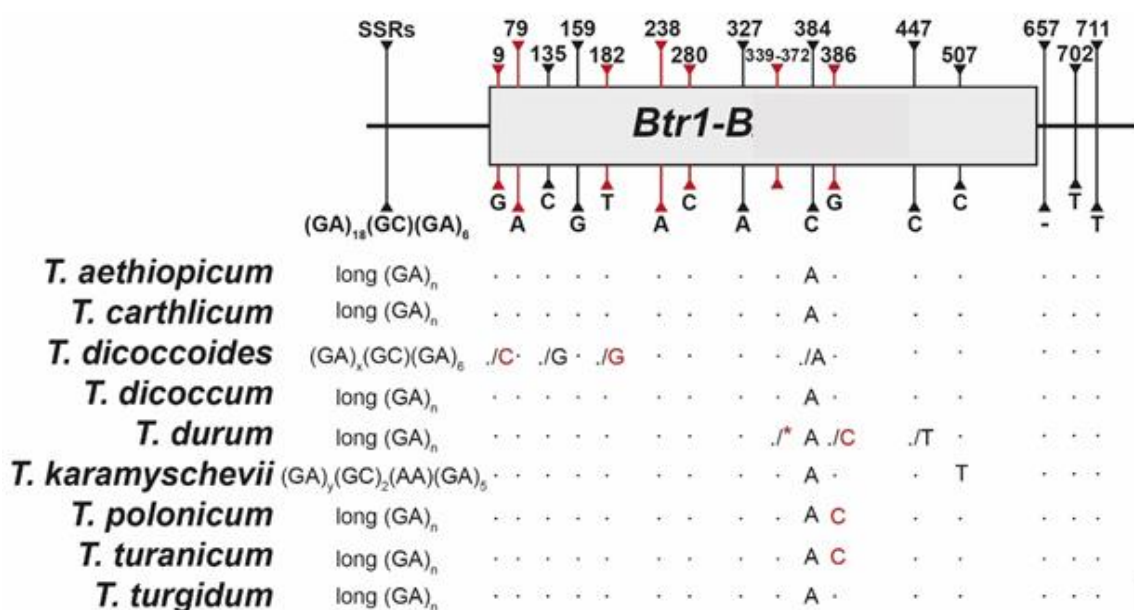


Рисунок 21. Схема аллельной изменчивости *Btr1-B* у тетраплоидных видов пшеницы.

Примечание: положения нуклеотидов приведены в соответствии с последовательностью *T. dicoccoides* (LSYQ02000006). SNP, которые вызывают аминокислотные замены, выделены красным цветом. Косая черта используется в случаях внутривидовой изменчивости в определенном положении нуклеотида. * - удаление длиной 34 п.н., описанное для *T. durum* Gaza (K-52989). *x*, *y* – количество повторяющихся единиц (GA), а именно *x* = одно из следующих 44, 17, 18 или 19, *y* = 41 или 42.

Две синонимичные SNP: 384 C/A и 507C/T (обозначаемые как аллель *Btr1-B^k*) отличают область кодирования *Btr1-B* *T. karamyshevii* KU 190-1 от *T. dicoccoides* (LSYQ02000006). Две последовательности, которые были получены для этого присоединения, были идентичны в кодирующей области, но различались в 5'UTR. Обе последовательности имели SSRs составного типа, при этом одна имела (GA)₄₂(GC)₂(AA)(GA)₅ в 5'UTR, в то время как другая - (GA)₄₁(GC)₂(AA)(GA)₅ (рисунок 21).

Образцы *T. polonicum* K-17893, местного сорта *T. turanicum* Хоросанской пшеницы и образцов и линий *T. durum* K-17784, K-17787, Sharik и Lnd 222 отличались от аллеля *Btr1-B* SNP 386G/C, что привело к аминокислотной замене 129Gly/Ala (обозначаемой как *btr1-B'*). В 5'UTR *btr1-B'* всех вышеописанных образцов представлен длинный мотив (GC)_n. Образец *T. durum* K-17787 имел дополнительный SNP 447C/T, который представляет собой синонимичную замену, отражающую внутривидовую изменчивость. Для *T. durum* Gaza (K-52989) был описан новый аллель *btr1-B^d*, обладающий делецией в кодирующей области длиной 34 п.н. и G в позиции 386 (рисунок 21). Это удаление привело к сдвигу рамки и преждевременному стоп-кодону. Аллель *btr1-B^d* имел длинный (GA)_n-мотив в 5'UTR (рисунок 21).

Несмотря на то, что и ген *Btr* и ген *Q* оба отвечают за процесс доместикации, ген *Btr* не представляется возможным использовать в процессе создания ЦК, в связи с тем, что он приводит к ломкости колоса, а именно к её крайней выраженности, что затрудняет процесс аннотирования образцов пшеницы.

3.2.6.3. Гены, отвечающие за доместикацию у тетраплоидных видов пшениц

Были проанализированы последовательности генов *Q* и *Btr*, и было обнаружено, что как делеция двух нуклеотидов в кодирующей области *Btr1-A*, так и наличие длинного (GA) повтора в промоторной области гена *Btr1-B* приводили к появлению фенотипа неломкого стержня колоса у тетраплоидных видов пшеницы (таблица 25). Этот факт находится в прямой корреляции с фактором спельтоидности, аллели *q* и аллели *Q* которого дают, соответственно, фенотипы ломкого и неломкого стержня колоса у тетраплоидных пшениц. Выявлено два исключения: полбы *T. dicoccum* и *T. karamyshevii*, которые содержат делецию в гене *Btr1-A* и длинный (GA) повтор в промоторной области гена *Btr1-B*, и при наличии этих мутаций сохраняют фенотип ломкого стержня колоса [121].

Таблица 25. Результаты фенотипирования и анализа аллелей генов *Btr1*

No.	Виды и сорта	Номер каталога	Происхождение	Фенотип колоса	Аллели <i>Btr1-A</i>	Аллели <i>Btr1-B</i> (SSRs in 5'UTR)	Фотография
Род <i>Triticum</i> L.							
Секция <i>Dicoccoides</i> Flaksb.							
1	<i>Triticum aethiopicum</i> Jakubz.	18999	Ethiopia ^a	Non-brittle rachis	<i>btr1-A</i> (=Tt <i>btr1-A</i>)	<i>btr1-B'</i> (long (GA) _n)	Не ломкоколосые
2	<i>T. carthlicum</i> Nevski	K-7106	Georgia ^b	Non-brittle rachis	<i>btr1-A</i>	<i>btr1-B'</i> ((GA) ₁₂₀)	Не ломкоколосые
3	<i>T. dicoccoides</i> (Körn. ex Aschers. et Graebn.) Schweinf.	PI352324	Lebanon ^c	Brittle rachis	<i>Btr1-A</i> (=Tt <i>Btr1-A</i>)	<i>Btr1-B</i> (=Tt <i>Btr1-B</i>) ((GA) ₅₅ (GC)(GA) ₆)	
4	<i>T. dicoccoides</i>	PI476027	Israel ^c	Brittle rachis	<i>Btr1-A</i>	<i>Btr1-B</i> ((GA) ₁₇ (GC)(GA) ₆)	

Таблица 25. Результаты фенотипирования и анализа аллелей генов *Btr1*

№.	Виды и сорта	Номер каталога	Происхождение	Фенотип колоса	Аллели <i>Btr1-A</i>	Аллели <i>Btr1-B</i> (SSRs in 5'UTR)	Фотография
5	<i>T. dicoccoides</i>	PI246702 7	Israel ^c	Brittle rachis	<i>Btr1-A</i>	<i>Btr1-B^{d1}</i> ((GA) ₁₇ (GC)(GA) ₆)	
6	<i>T. dicoccoides</i>	PI467017	Israel ^c	Brittle rachis	<i>Btr1-A</i>	<i>Btr1-B^{d1}</i> <u>((GA)₁₇(GC)(GA)₆) and</u> <u>((GA)₁₈(GC)(GA)₆)</u>	Не ломкоколосые
7	<i>T. dicoccoides</i>	PI467005	Israel ^c	Brittle rachis	<i>Btr1-A</i>	<i>Btr1-B^{d2}</i> ((GA) ₁₉ (GC)(GA) ₆)	Не ломкоколосые
8	<i>T. dicoccoides</i>	PI467016	Israel ^c	Brittle rachis	<i>Btr1-A</i>	<i>Btr1-B^{d1}</i> <u>((GA)₁₇(GC)(GA)₆) and</u> <u>((GA)₁₈(GC)(GA)₆)</u>	
9	<i>T. dicoccum</i> cv. Dichter Rotlicher	K-1730	Germany ^b	Brittle rachis	<i>btr1-A</i>	<i>btr1-B'</i> (long (GA) _n)	Не ломкоколосые
10	<i>T. dicoccum</i>	T 11064	Germany ^d	Brittle rachis	<i>btr1-A</i>	<i>btr1-B'</i> ((GA) ₇₃)	Не ломкоколосые

Таблица 25. Результаты фенотипирования и анализа аллелей генов *Btr1*

No.	Виды и сорта	Номер каталога	Происхождение	Фенотип колоса	Аллели <i>Btr1-A</i>	Аллели <i>Btr1-B</i> (SSRs in 5'UTR)	Фотография
11	<i>T. dicoccum</i>	i: BS1E	Russia ^e	Brittle rachis	<i>btr1-A</i>	<i>btr1-B'</i> (long (GA) _n)	
12	<i>T. dicoccum</i> (Schrack) Schuebl.	K-7500	Germany ^b	Brittle rachis	<i>btr1-A</i>	<i>btr1-B'</i> (long (GA) _n)	
13	<i>T. durum</i> Desf.	K-17784	Cyprus ^b	Non-brittle rachis	<i>btr1-A</i>	<i>btr1-B''</i> (long (GA) _n)	Не ломкоколосые
14	<i>T. durum</i>	K-17787	Cyprus ^b	Non-brittle rachis	<i>btr1-A</i>	<i>btr1-B''</i> (long (GA) _n)	Не ломкоколосые
15	<i>T. durum</i>	Sharik	Russia ^e	Non-brittle rachis	<i>btr1-A</i>	<i>btr1-B''</i> (long (GA) _n)	Не ломкоколосые
16	<i>T. durum</i>	Lnd222	USA ^f	Non-brittle rachis	<i>btr1-A</i>	<i>btr1-B''</i> (long (GA) _n)	Не ломкоколосые

Таблица 25. Результаты фенотипирования и анализа аллелей генов *Btr1*

No.	Виды и сорта	Номер каталога	Происхождение	Фенотип колоса	Аллели <i>Btr1-A</i>	Аллели <i>Btr1-B</i> (SSRs in 5'UTR)	Фотография
17	<i>T. durum</i> cv. Gaza	K-52989	Israel ^b	Non-brittle rachis	<i>btr1-A</i>	<i>btr1-B^d</i> (long (GA) _n)	Не ломкоколосые
18	<i>T. karamyshevii</i> Nevski	KU190-1	Georgia ^g	Brittle rachis	<i>btr1-A</i>	<i>Btr1-B^k</i> ((GA) ₄₂ (GC) ₂ (AA)(GA) ₅ or (GA) ₄₁ (GC) ₂ (AA)(GA) ₅)	Не ломкоколосые
19	<i>T. polonicum</i> L.	K-39297	Georgia ^b	Non-brittle rachis	<i>btr1-A</i>	<i>btr1-B''</i> (long (GA) _n)	Не ломкоколосые
20	<i>T. polonicum</i>	K-17893	Palestine ^b	Non-brittle rachis	<i>btr1-A</i>	<i>btr1-B''</i> (long (GA) _n)	Не ломкоколосые
21	<i>T. turanicum</i> Jakubz., landrace Khorosan wheat	K-15993	Turkey ^b	Non-brittle rachis	<i>btr1-A</i>	<i>btr1-B''</i> (long (GA) _n)	Не ломкоколосые
22	<i>T. turgidum</i> L. cv. Maiorka	K-16156	Algeria ^b	Non-brittle rachis	<i>btr1-A</i>	<i>btr1-B'</i> (long (GA) _n)	Не ломкоколосые
Секция <i>Timopheevii</i> A.Filat. et Dorof.							
23	<i>T. araraticum</i> Jakubz.	K-30258	Armenia ^b	Brittle rachis	<i>Btr1-A^a</i>	-	Не ломкоколосые
24	<i>T. araraticum</i> Jakubz.	K-31628	Armenia ^b	Brittle rachis	<i>Btr1-A^a</i>	-	Не ломкоколосые
25	<i>T. araraticum</i> Jakubz.	K-28244	Azerbaijan ^b	Brittle rachis	<i>Btr1-A^a</i>	-	Не ломкоколосые
26	<i>T. timopheevii</i> (Zhuk.) Zhuk.	11651#1	Georgia ^f	Brittle rachis	<i>Btr1-A^t</i>	-	

Таблица 25. Результаты фенотипирования и анализа аллелей генов *Btr1*

No.	Виды и сорта	Номер каталога	Происхождение	Фенотип колоса	Аллели <i>Btr1-A</i>	Аллели <i>Btr1-B</i> (SSRs in 5'UTR)	Фотография
27	<i>T. timopheevii</i> (Zhuk.) Zhuk.	KU107-1	Georgia ^g	Brittle rachis	<i>Btr1-A^t</i>	-	
28	<i>T. timopheevii</i> (Zhuk.) Zhuk.	K-38555	Georgia ^b	Brittle rachis	<i>Btr1-A^t</i>	-	

Примечание. ^a - Ethiopian Biodiversity Institute (Addis-Ababa); ^b - N.I. Vavilov Institute of Plant Genetic Resources (VIR, Russian Federation); ^c - the National Small Grains Collection (NSGC, USA); ^d - Max-Planck-Institut für Pflanzenzüchtungsforschung (MPIPZ, Köln); ^e - The Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics SB RAS (Russian Federation); ^f - Gifu University (Japan); ^g - Kyoto University (Japan). SSRs are underlined in case two different variants of SSRs were identified for the accessio

Заключение по разделу 3.2. Главы 3. Результаты

Проведенный гибридологический анализ обеспечил получение форм F₂ гибридов с возможностью оценки видоспецифических признаков. При изучении наследования данных признаков у *T. aethiopicum*, *T. durum*, *T. dicoccum*, *T. polonicum*, *T. carthlicum* установлено, что помимо скрещиваний, в результате которых происходит расщепление по Менделю ($\chi^2 = 3:1$), выявлено неменделевское наследование, свидетельствующее о влиянии у межвидовых гибридов генов, контролирующих самонесовместимость, в связи с чем полученные результаты не всегда соответствуют теоретически ожидаемым.

Видоспецифические признаки можно изучать и посредством молекулярно-биологических методов, однако ряд признаков, например, ломкоколосость (ген *Btr*), не могут быть использованы для создания ЦК колосьев видов пшениц.

Произведено амплифицирование полноразмерной кодирующей области *Btr1-A* и 5' и 3' UTR этого гена, длина фрагмента составила ~ 900 п.н. 5' UTR гена *Btr1-A* изученных тетраплоидных видов пшеницы (кроме *T. araraticum* и *T. karamyshevii*) содержат простые повторы последовательности (SSRs) следующей структуры: (CG)₅C(GA)₄AA(GA)₅. SSRs образцов *T. karamyshevii* отличаются от вышеупомянутых одной заменой, (CG)₅A(GA)₄AA(GA)₅. В образцах *T. araraticum* SSRs длиннее на одном (GA) повторе: (CG)₅C(GA)₄AA(GA)₆, в то время как у образцов *T. karamyshevii* SSRs отличаются. Кодирующая область последовательностей *Btr1-B* *T. aethiopicum*, *T. carthlicum*, *T. dicoccum* и *T. turgidum* L. была почти идентична аллелю *TtBtr1-B* *T. dicoccoides* (LSYQ02000006). Единственным идентифицированным SNP был синонимичный 384C/A, этот аллель был обозначен как *btr1-B'*. 5'UTR *Btr1-B* у вышеупомянутых видов отличались, поэтому *T. aethiopicum* 18999, *T. turgidum* Maiorka и *T. dicoccum* i:BS1E имеют мотив (GA)_n длиной более 240 п.н. (идеальное повторение типа). Мотивы (GA)_n в образцах *T. carthlicum* K-7108 и *T. dicoccum* T 11064 были несколько короче, 120 п.н. и 73 п.н., соответственно.

При анализе последовательности генов *Q* и *Btr*, выявлено, что как делеция двух нуклеотидов в кодирующей области *Btr1-A*, так и наличие длинного (GA) повтора в промоторной области гена *Btr1-B* приводили к появлению фенотипа неломкого стержня колоса у тетраплоидных видов пшеницы. Данный признак ассоциирован с фактором спельтоидности, аллели *q* и аллели *Q* которого дают, соответственно, фенотипы ломкого и неломкого стержня колоса у тетраплоидных пшениц.

3.3. Создание цифровой коллекции видоспецифических признаков колосьев пшеницы

Итогом выполнения данной работы явилось создание ЦК видоспецифических признаков колосьев пшеницы. С одной стороны, это предполагало систематизацию и упорядочивание накопленных данных, с другой – обеспечивало возможность идентификации новых растений, что подчеркивает практическую значимость выполненной работы.

Информация по описанию и анализу морфологических признаков колосьев пшеницы, внесённая в ЦК колосьев - позволила дополнить БД и применить методы биоинформатического анализа и компьютерного обучения. Использовался не только алгоритм определения колоса на 2-мерном изображении (стандартный протокол), но и подход для количественного описания формы колоса. Описание реализуется с помощью интегральных характеристик (округлость колоса, его длина и ширина), а также на основе параметров 3 моделей (модель сечений, четырёхугольников и радиальная модель). Информация о морфометрических характеристиках колоса, полученная в результате анализа, может быть полезна как в высокопроизводительном, автоматизированном фенотипировании, так и при проведении селекционно-генетических экспериментов [65].

На данный момент на основании созданной нами ЦК колосьев расширена информация БД, которая включает 2 подколлекции:

1. Подколлекция F₂ гибридов *T. aestivum* × *T. yunnanense* – 124 растения – 620 фото.
2. Подколлекция 7 гексаплоидных видов пшениц (*T. sphaerococcum*, *T. spelta*, *T. macha*, *T. compactum*, *T. antiquorum*, *T. aestivum*, *T. yunnanense*) и 1 амфиплоида (*Amphyploid speltiforme*) – 256 растений – 1280 фото.

Подколлекция F₂ гибридов представляет интерес в связи с тем, что родительские образцы растений имеют разную по плотности форму колоса (*T. aestivum* – нормальный колос; *T. yunnanense* – плотный колос). Вторая подколлекция содержит виды пшеницы с контрастными формами колоса.

Аннотирование колосьев осуществлялось по следующим морфологическим характеристикам:

- | | |
|---------------------------|-----------------------------|
| • Форма колоса | • Цвет колоса |
| • Длина колоса | • Характер остистости |
| • Количество колосков | • Опушение колосковой чешуи |
| • Индекс плотности колоса | • Опушение на оси колоска |

Расширенная БД цифровой коллекции колосьев расположена на сайте ИЦиГ СО РАН по ссылке: <http://spikedroid.biores.cytogen.ru/en>. На рисунке 22 представлен пример страницы этой БД. Вводя в поисковых строках нужные данные, например, посевной номер или номер каталога, страница перейдёт на нужный образец.



Log in

[Home](#)
[Methods](#)
[Collections](#)
[Plants](#)
[Spikes](#)

SpikeDroidDB

Plants export statistics

Sowing number: Generation: P Catalog number
 Country: Cultivar

Sowing number	Reproduction	Cultivar	Catalog number	Country	Species	Collection
6523	IX-16	#37	k-1386	Tajikistan	Triticum aestivum L.	Wheat ear collection of Goncharov N.P.
6524	IX-16	#37	k-1386	Tajikistan	Triticum aestivum L.	Wheat ear collection of Goncharov N.P.
6525	IX-16	#37	k-1386	Tajikistan	Triticum aestivum L.	Wheat ear collection of Goncharov N.P.
6526	IX-16	#37	k-1386	Tajikistan	Triticum aestivum L.	Wheat ear collection of Goncharov N.P.
6527	IX-16	#37	k-1386	Tajikistan	Triticum aestivum L.	Wheat ear collection of Goncharov N.P.
6528	IX-16	#37	k-1386	Tajikistan	Triticum aestivum L.	Wheat ear collection of Goncharov N.P.
6529	IX-16	#37	k-1386	Tajikistan	Triticum aestivum L.	Wheat ear collection of Goncharov N.P.
96.12	V-16	#37	k-1386	Tajikistan	Triticum aestivum L.	Wheat ear collection of Goncharov N.P.
96.13	V-16	#37	k-1386	Tajikistan	Triticum aestivum L.	Wheat ear collection of Goncharov N.P.
96.14	V-17	#37	k-1386	Tajikistan	Triticum aestivum L.	Wheat ear collection of Goncharov N.P.
96.15	V-17	#37	k-1386	Tajikistan	Triticum aestivum L.	Wheat ear collection of Goncharov N.P.
96.17	V-17	#37	k-1386	Tajikistan	Triticum aestivum L.	Wheat ear collection of Goncharov N.P.
96.2	V-16	#37	k-1386	Tajikistan	Triticum aestivum L.	Wheat ear collection of Goncharov N.P.
96.4	V-16	#37	k-1386	Tajikistan	Triticum aestivum L.	Wheat ear collection of Goncharov N.P.
96.6	V-16	#37	k-1386	Tajikistan	Triticum aestivum L.	Wheat ear collection of Goncharov N.P.
96.8	V-16	#37	k-1386	Tajikistan	Triticum aestivum L.	Wheat ear collection of Goncharov N.P.
96.9	V-16	#37	k-1386	Tajikistan	Triticum aestivum L.	Wheat ear collection of Goncharov N.P.
70.1	V-16	#29	k1709	Tajikistan	Triticum compactum Host	Wheat ear collection of Goncharov N.P.
70.11	V-16	#29	k1709	Tajikistan	Triticum compactum Host	Wheat ear collection of Goncharov N.P.
70.12	V-16	#29	k1709	Tajikistan	Triticum compactum Host	Wheat ear collection of Goncharov N.P.

Page 1 10

Рисунок 22. Информационная система SpikeDroidDB для фенотипирования колоса пшеницы [122], используемая в рамках настоящей работы: иллюстративный пример работы свободно доступного Web-интерфейса пользователя

Далее, перейдя по активной ссылке на образец (в качестве примера взят образец «6523 Вегетация IX-16») открывается новая страница (рисунок 23), где дано краткое описание образца, а также QR-код.



6523 IX-16	
Sowing number: 6523	QR code 
Reproduction: IX-16	
Cultivar: #37	
Catalog number: k-1386	
Species: Triticum aestivum L.	
Country: Tajikistan	
Collection: Wheat ear collection of Goncharov N.P.	
Spikes 6523 IX-16 spike	

Рисунок 23. Информационная система SpikeDroidDB для фенотипирования колоса пшеницы [122], используемая в рамках настоящей работы: иллюстративный пример цифровой записи об образце колоса "№6523 Вегетация IX-16", включая QR-код этого образца, обеспечивающий свободный доступ ко всей информации о нем, собранной в системе SpikeDroidDB

Перейдя по активной ссылке «Колосья» внизу страницы открывается окно (рисунок 24), где представлено описание образца по признакам, а также даны примеры фото колоса, снятые по 2 протоколам.

6523 IX-16 spike

Plant: 6523 IX-16		
Spike length: 9.60cm		Protocol: object table
Spike front width: 0.70cm		
Spike side width: 0.50cm		Protocol: pin
Spikelet count: 18		
Density index: 17.71		Protocol: pin
Spike color: white		
Awn type: appendages awn's		Protocol: pin
Shape type: normal		
Hairiness on spike scales: no		Protocol: pin
Hairiness on the axis of the spike: no		

Рисунок 24. Информационная система SpikeDroidDB для фенотипирования колоса пшеницы [122], используемая в рамках настоящей работы: иллюстративный пример всей информации об образце колоса "№6523 Вегетация IX-16", собранной и свободно доступной в SpikeDroidDB по его QR-коду

Заключение по разделу 3.3. Главы 3. Результаты

Таким образом, использование стандартного протокола с алгоритмом определения колоса на 2-мерном изображении, подхода для количественного описания формы колоса с помощью интегральных характеристик (округлость колоса, его длина и ширина) и на основе параметров 3 моделей (модель сечений, четырёхугольников и радиальная модель) обеспечило создание ЦК видоспецифических признаков колоса пшеницы. Информация по описанию и анализу морфологических признаков колосьев пшеницы, внесённая в БД, позволила воспользоваться результатами обучения нейронной сети.

Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ

4.1. Фенотипирование видоспецифических признаков пшеницы разного уровня ploидности

По результатам генетического и молекулярно-биологического анализа признаков пшениц для создания ЦК колосьев видов пшениц были использованы наиболее информативные из них, а именно: спельтоидная и компактная форма колоса, наличие круглого зерна, ветвистоколосость, полоникумность и наличие/отсутствие остей. Эти признаки являются основными таксономически значимыми признаками. По описанным выше признакам у тетраплоидных пшениц выявлен следующий генетический контроль: спельтоидность (ген *Q*), тетраостость (ген *ta*), полоникумность (ген *P1*), ветвистоколосость (ген *bh*). В то время как, видоспецифические признаки гексаплоидных пшениц были следующие: спельтоидность (ген *Q*), компактность (ген *C₂*), круглозёрность (ген *s*), ветвистоколосость (ген *V*).

Для поиска признаков, которые могут быть эффективно использованы при создании ЦК колосьев был проведён гибридологический анализ.

4.2. Изучение наследования видоспецифических признаков у тетраплоидных видов пшениц ($2n=28$)

Первый этап настоящего исследования был посвящён гибридологическому анализу. Тетраплоидные виды пшеницы являются самой многочисленной группой в роде *Triticum*. Наследование видоспецифических признаков у данных видов изучено плохо и требует дополнительного изучения [120].

4.2.1. Наследование видоспецифических признаков у *T. aethiopicum*

Исходя из данных, представленных в таблице 16 можно видеть, что в 1-м скрещивании, где в качестве отцовского растения взят вид *T. dicossum*, F₂ гибридов наследуют форму колоса по отцовскому типу, а тип остей по материнскому, а исходя из 2-го скрещивания, где отцовское растение это тот же *T. dicossum* (но, другой номер каталога), гибридами достоверно наследуется окраска колоса по материнскому типу, в отличие от 1-го скрещивания.

Согласно данным В.И. Авдеева и А.Ж. Саудабаевой [123] у вида *T. dicossum* белая окраска колоса контролируется рецессивным аллелем гена, что согласуется с нашими данными (см. таблицу 16).

При скрещивании *T. aethiopicum* на *T. dicoccoides* форма колоса и безостость наследуются по отцовскому типу, проявляя своё доминирование. Согласно монографии Н.П. Гончарова [27] у вида *T. dicoccoides* признак спельтоидной формы колоса контролируется моногенно по доминантному типу, что согласуется с полученными результатами (см. таблицу 16). Однако анализируя данные из таблицы 14 видно, что в F₂ гибридов в скрещивании *T. durum* на *T. dicoccoides* в нашем исследовании форма колоса не доминирует.

В то время, как при использовании в качестве отцовского растения, вида *T. polonicum*, отсутствие окраски колоса и безостость, так же, достоверно наследуются по отцовскому типу.

В статье Е.Д. Бадаевой с соавт. [124] показано, что безостость у вида *T. aethiopicum* контролируется рецессивным геном, что не является типичным для рода *Triticum* L. Помимо этого, в работе отмечено, что такой же рецессивный характер наследования признака «безостость» выявлен у *Ae. speltoides* Tausch., который является ближайшим сородичем пшеницы [34; 35].

При скрещивании с *T. carthlicum*, в качестве отцовского растения можно видеть, что характер наследования остей наследуется по отцовскому типу, а отсутствие тетраостости по материнскому, т.е. признак «тетраостость» наследуется по рецессивному типу, что согласуется с данными О.Б. Добровольской с соавт. (см. таблицу 16) [120].

4.2.2. Наследования видоспецифических признаков у *T. durum*

При скрещивании *T. durum* на *T. dicoccum*, результаты противоречивые. В 1-ой повторности достоверных результатов наследования нет. В 3-х последующих повторностях есть совпадение в характере наследования формы колоса и опушения колосковой чешуи, а именно в том, что среди всех F_2 гибридов форма колоса наследуется по материнскому типу, как и отсутствие опушения колосковой чешуи, которое характерно для вида *T. durum*.

Анализируя данные, представленные в таблице 18, можно видеть, что в 1-м скрещивании, где в качестве отцовского растения взят вид *T. dicoccum* в F_2 гибридов наследуют от него форму колоса, опушение колосковой чешуи, а также тип остей, в то время как во 2-ом скрещивании наличие дополнительной ости, характерное для отцовского вида *T. dicoccum*, достоверно наследуется по материнскому типу (т.е. дополнительной ости нет).

Опушение колосковой чешуи наследуется моногенно по доминантному типу [19]. И, если в скрещиваниях, где в качестве отцовской формы был взят вид *T. dicoccoides* это согласуется, то в скрещиваниях, где отцовской формой был вид *T. dicoccum* это противоречит заявленному тезису (см. таблицу 18). Помимо этого, если посмотреть на данные из таблицы 20, где показано скрещивание *T. dicoccum* на *T. durum*, то там, опять же, признак опушения колосковой чешуи контролируется по рецессивному типу от материнской формы.

В следующем скрещивании, где в качестве отцовского растения взят вид *T. polonicum* по признаку длина колосковой чешуи мы получили значение $\chi^2 =$

0.061. В F_2 гибридов наследуется удлинённая колосковая чешуя по отцовскому типу.

В работе N. Watanabe и I. Imamura [125] показано, что признак удлинённая колосковая чешуя у вида *T. polonicum* контролируется моногенно по доминантному типу. В таблице 22 этот результат также согласуется с их данными, т.к. признак удлинённая колосковая чешуя везде наследовался по материнскому типу (*T. polonicum*).

В скрещивании *T. durum* × *T. turgidum* признак «ветвистоколосость» наследуется по материнскому типу, т.е. не проявляется в F_1 гибридов. Если посмотреть на таблицу 20, где в качестве материнского растения был взят вид *T. dicossum*, то можно видеть, что при таком скрещивании, признак «ветвистоколосость» снова не проявляет доминирование. В работе О.Б. Добровольской [126] заявлено, что признак ветвистоколосости контролируется моногенно по рецессивному типу, что согласуется с нашими данными.

4.2.3. Наследования видоспецифических признаков у *T. dicossum*

В таблице 20 представлены данные по пяти скрещиваниям, где в качестве материнского растения был взят вид *T. dicossum*. Во 2-м скрещивании признак опушение колосковой чешуи достоверно наследуется по материнскому типу, а именно наличие опушения.

Если в качестве отцовского растения взять вид *T. carthlicum*, то все изученные признаки достоверно наследуются по отцовскому типу, а именно отсутствие опушения колосковой чешуи, тетраостость, отсутствие дополнительной ости и наличие окраски колоса. Наличие окраски колоса у вида *T. dicossum* контролируется доминантными генами [123], а в нашем исследовании материнская форма колоса была не окрашена, соответственно в F_2 гибридов преимущественно унаследовали чёрную окраску колоса по отцовскому типу, как

и при скрещивании, где в качестве отцовского растения был взят вид *T. dicoccoides*, где в F₂ гибридов также унаследовали окраску по отцовскому типу.

Согласно Р.В. Рожкову, с соавт. [127] признак «персикоидность», или «тетраостость», наследуется моногенно по рецессивному типу. Однако согласно данным из таблицы 15, в F₂ гибридов с признаком тетраостости больше, нежели без этого признака. Соответственно в данном скрещивании признак тетраостости контролируется по доминантному типу. Однако, если рассмотреть таблицу 24, где произведено скрещивание тех же видов, но в этот раз в качестве материнской формы взят вид *T. carthlicum*, наблюдается обратный результат, а именно, что в F₂ гибридов с признаком тетраостости меньше, нежели без этого признака.

В скрещивании *T. dicoccum* на *T. carthlicum* опушение колосковой чешуи контролируется от отцовской формы по доминантному типу, что согласуется с данными Н.П. Гончарова [27] (см. таблицу 20).

Признак «ветвистоколосость», который анализировался здесь при скрещивании с *T. turgidum*, наследуется рецессивно, что согласуется с результатами А.С. Жангазиева [128], и наследуется таким образом по материнскому типу, т.е. форма колоса нормальная (как и при скрещивании в таблице 18).

4.2.4. Наследования видоспецифических признаков у *T. polonicum*

Было произведено скрещивание вида *T. polonicum* на 3 различных вида тетраплоидной пшеницы, а именно, *T. aethiopicum*, *T. dicoccoides* и *T. dicoccum*.

При скрещиваниях, где в качестве отцовской формы были взяты виды *T. aethiopicum* и *T. dicoccoides* признак длина колосковой чешуи достоверно наследуется по материнскому типу. Однако, при скрещивании с *T. dicoccum* результаты противоречивые. Достоверное наследование признака безостости

колоса по материнскому типу, было получено во всех скрещиваниях, где в качестве отцовской формы был взят вид *T. dicossum* (см. таблицу 22).

В последнем типе скрещиваний, когда в роли отцовского растения был взят вид *T. dicossum*, если по признаку безостости все растения в F₂ гибридов наследуют эти признаки по материнскому типу *T. polonicum*, то анализируя признак форма колоса, можно наблюдать проявление спельтоидной формы колоса в большинстве полученных в F₂ гибридов, т.е. проявление наследования формы колоса по отцовскому типу.

В статье Н.П. Гончарова и др. [129] так же показано, что для вида *T. dicossum* характерно моногенное рецессивное наследование признака остистости. В ходе эксперимента было произведено скрещивание безостой геномно-замещенной линии Langdon 5D-5A с образцом Местная (Алтай) *T. dicossum*. В результате был получен результат 16 безостых растений к 0 остистых.

Рассматривая признак «бородка у основания колосков», характерный для вида *T. dicoccoides*, можно наблюдать его наследование в группе F₂ гибридов, от скрещивания *T. polonicum* × *T. dicoccoides*, однако достоверным оно было лишь в одной повторности из двух. В таблице 20 при скрещивании *T. dicossum* × *T. dicoccoides*, бородка у основания колосков наследуется не моногенно (значение $\chi^2 = 8.257$).

4.2.5. Наследования видоспецифических признаков у *T. carthlicum*

Анализируя данные представленные в таблице 24, можно сделать вывод, что при скрещивании, где в качестве отцовской формы взят вид *T. dicossum* нормальная форма колоса наследуется моногенно по материнскому типу в обеих повторностях, в то время как отсутствие дополнительной ости наследуется также по материнскому типу, однако достоверно только в одной повторности из двух.

Анализируя признак «тетраостость» можно сделать вывод, что в обоих скрещиваниях, как с видом *T. dicocum*, так и с видом *T. polonicum* – наследование идёт по отцовскому типу, т.е. признак в гибридной комбинации не доминирует, что соответствует результатам, полученным ранее другими исследователями [120; 128], однако достоверно это только относительно вида *T. dicocum*.

Помимо названных выше признаков, нужно отметить, что при скрещивании *T. carthlicum* на *T. polonicum* признаки «отсутствие остей» и «удлинённая колосковая чешуя», наследуются по отцовскому типу (см. таблицу 24).

При скрещивании разных видов тетраплоидных пшениц, в ряде межвидовых гибридов, наследование не соответствует теоретически ожидаемому. В таких комбинациях скрещивания, информация о характере наследования может быть использована на основе результатов изучения F_1 гибридов.

Таким образом, в нашем исследовании показано, что при соответствии наследования при скрещивании разных видов тетраплоидных пшениц теоретически ожидаемому, в этих вариантах скрещивания информация о характере наследования может быть использована для создания ЦК колосьев видов пшениц, применении результатов обучения нейронной сети и расширения БД.

4.3. Изучение ломкоколосости у тетраплоидных видов пшениц ($2n=28$)

Вторым этапом настоящей работы было проведение молекулярного анализа, для изучения признака «ломкоколосости» у тетраплоидных пшениц.

Сравнительный анализ полученных последовательностей и последовательностей гена *Btr1*, представленных в генбанке, позволил выявить три аллеля. В соответствии с описанием Avni et al., последовательности гена

Btr1-A у всех образцов *T. dicoccoides* оказались идентичными эталонному аллелю *T. dicoccoides* (*TtBtr1-A*) [119] (рисунок 20). Остальные образцы изученных видов пшеницы из секции *Dicoccoides* характеризовались наличием аллеля *btr1-A* с делецией длиной 2 п.н. в пределах кодирующей области, что ранее было описано для сорта *T. durum* (*Ttbtr1-A*) (рисунок 20). 3'UTR *Btr1-A* *T. durum* и 5' UTR этого гена *T. karamyshevii* содержали видоспецифичные и специфичные для присоединения нуклеотидные замены по сравнению с остальными полученными последовательностями.

Для видов *T. araraticum* и *T. timopheevii* были описаны новые аллели гена *Btr1-A*. Они обозначены как *Btr1-A^a* и *Btr1-A^t*, соответственно. В отличие от других изученных тетраплоидных пшениц, аллель *Btr1-A^a* характеризовался четырьмя однонуклеотидными заменами в кодирующей области, а именно, 184 G/C, 371 A/G, 445 G/C и 567 T/C, и одним SNP в 3' UTR (640 G/C) (рисунок 20). Три из перечисленных нуклеотидных замен привели к аминокислотным заменам, в частности 62Glu/Gln, 124 Gln/Arg и 149Ala/Pro. Вставка в 2 п.н. (GA) для 5' UTR этого аллеля была описана дополнительно (рисунок 20). *Btr1-A^t* имеют те же SNP, что и *Btr1-A^a*, за исключением 567 T/C, так как в этом положении аллель *Btr1-A^t* имеет делецию одного нуклеотида, которая вызывает сдвиг рамки считывания и образование белка 22 аа, длиннее, чем белок диплоидного культивируемого вида пшеницы, *T. monosocum* L. Более того, аллели *Btr1-A^a* и *Btr1-A^t* не содержат делеции в 2 п.н. (CG), которая была описана для всех ранее изученных полиплоидных сортов пшеницы.

Для *T. dicoccoides* характерна самая высокая внутривидовая изменчивость гена *Btr1-B*. В кодирующей области гена *Btr1-B*, включая 9G/C, 135 C/G, 182T/G и 384C/A были обнаружены четыре переменных положения (рисунок 21). Три образца *T. dicoccoides* (PI2467027, PI467016 и PI467017) характеризовались одной синонимичной и одной несинонимичной заменой, а именно 9G/C (3His/Gln) и 384C/A. Этот аллель *Btr1-B* был обозначен как *Btr1-B^{d1}*. Для нового аллеля *T. dicoccoides* PI467005, обозначенного как *Btr1-B^{d2}*, была описана другая

несинонимичная замена 182T/G (61Val/Gly). Синонимичные замены представлены в трех других вариантах *T. dicoccoides*, включая 135C/G и 384C/A в PI352324 и 384C/A в PI476027 (не указанные как новые аллели). В отношении SSRs в 5'UTR было идентифицировано несколько вариантов несовершенных (GA)_n повторов, прерываемых динуклеотидом GC (таблица 25, рисунок 21). Для трех образцов *T. dicoccoides* (PI467016, PI467019 и PI467017) были получены две разные последовательности, отличающиеся по длине на 2 п.н. из-за изменчивости SSRs (таблица 25, рисунок 21).

Помимо данных локусов, важное значение для селекционеров представляет локус *Btr* (неломкий стержень колоса). Неломкие стержни колоса злаков облегчают уборку, поэтому их отбирают при одомашнивании и последующем возделывании. Гены *Btr1* и *Btr2* описаны для *T. dicoccoides* (Körn. ex Aschers. et Graebn.) Schweinf. (образец из Израиля) и *T. durum* Desf. Svevo Avni et al. (образец из Италии) в качестве ортологов генов ячменя [119]. Аллель *btr1-A* возделываемых *T. durum* отличается от *Btr1-A* дикого вида *T. dicoccoides* делецией 2 п.н. Эта делеция генерирует преждевременный стоп-кодон и образование укороченного белка длиной 97 АК вместо 196 АК [79]. Дальнейшие исследования *Btr1-A* подтвердили, что эта мутация присутствует у всех изученных к настоящему времени полиплоидных видов пшеницы, за исключением дикого *T. dicoccoides* [45; 119].

Ранее, ген *Q* был подробно изучен, и было выявлено, что он плеiotропно влияет на ломкость стержня колоса у видов пшеницы разного уровня ploидности [33; 130; 131]. Два аллеля (*q* и *Q*), известные для гена *Q-5A*, различаются несинонимичным SNP в экзоне 8 (329Val/Ile) с одним синонимичным SNP в предполагаемом сайте связывания miRNA172, идентифицированном в экзоне 10 [39; 71].

4.4. Фенотипирование архитектоники формы колоса и аннотирование цифровой коллекции колосьев видов пшениц

Следующим этапом нашей работы оказалось фенотипирование архитектоники колоса. Были выбраны некоторые модели для визуализации морфологии колоса, в частности: радиальная модель, а также модели сечений и четырехугольников. Характеристики вышеописанных моделей с использованием подходов машинного обучения были применены для предсказания плотности колоса и его типа (спельтоидного, нормы и компактного).

Была предпринята попытка распределить колосья по значимым признакам. Например, при изучении такого признака, как «площадь остей», установлено, что имеется прямая ассоциация величины данного параметра с количеством идентифицированных остей колоса на изображении. Разделяя колосья гексаплоидной пшеницы по этому признаку, условно получаем 3 класса. При величине показателя более 90 мм² верифицируется класс «остистые» (виды - *T. spelta*, *T. vavilovii*, *T. compactum*, *T. petropavlovskiyi*). Класс «умеренно остистые» определяется при варьировании параметра от 30 мм² до 90 мм² (виды - *T. macha*, *T. yunnanense*, *T. aestivum*). Наконец, при уровне показателя менее 30 мм² выделяется класс «безостые», к которому относятся следующие виды пшеницы - i:АНК-23, *T. sphaerococcum*, *T. spelta* cv. Rother Sommer Kolben, *T. antiquorum*. Изображения колосьев даны в главе 3.1.3. Можно сделать заключение о существенном разнообразии образцов гексаплоидных видов пшениц по признаку «наличие/отсутствие остей».

Согласно рисунку 14, распределения обоих параметров (длина и периметр колоса) у тетраплоидных видов пшениц имеют меньший разброс, чем у гексаплоидных видов.

По результатам проделанной работы, можно заключить, что колосья тетра- и гексаплоидных видов пшениц в значительной степени сходны по своим параметрам, чему можно найти подтверждение на диаграмме (рисунок 15), где зоны данных видов пшениц перекрываются. Это соответствует данным на рисунке 14. Анализируя диаграмму (рисунок 15), можно заметить преобладание соответствующих образцам гексаплоидной пшеницы точек в правой части графика. Из рисунка наглядно видно большее количество оранжевых точек (гексаплоидные пшеницы) при величине компоненты 1 > -20 . Ещё в большей степени обращает на себя внимание такое преобладание при значениях компоненты 1 < 0 , а компоненты 2 > 20 (правый верхний угол диаграммы). Из полученных данных можно сделать вывод, что перечень параметров колоса выявляется только у гексаплоидных, но не у тетраплоидных видов, что соответствует результатам, представленным на рисунке 15. Возможно такие области согласуются с большими величинами параметров «длина» и «периметр» колоса.

Изучая диаграмму на рисунке 16 можно заметить, что зоны некоторых видов пшеницы перекрываются (область перекрытия, соответствующая видам *T. aestivum* и *T. durum*, отмечена штриховой линией), хотя каждый вид преимущественно занимает отдельную компактную область на диаграмме. Также можно видеть распределение видов пшеницы в соответствии с проявлением их морфологических признаков, например, вид *T. compactum* – представлен малым синим кругом и расположен в зоне компоненты 1 от -60 до 0, компоненты 2 от -60 до 0, а вид *T. petropavlovskyi* – изображён как фиолетовый треугольник с компонентой 1 от -20 до 0, компонентой 2 от 40 до 80.

Резюмируя, можно сказать, что пшеница является высоко-адаптивным растением. Исходя из диаграмм на рисунках 15 и 16 видно, что образцы растений пшеницы занимают обширные, рассредоточенные, но в то же время, и перекрывающиеся области, что означает самые разнообразные вариации по форме колоса. С одной стороны, этот факт несёт положительное значение о том,

что растения пшеницы эволюционируя и приспосабливаясь к различным условиям окружающей среды на данный момент имеют обширные фенотипические различия по архитектонике колоса. С другой стороны, классифицировать и распределять образцы по видам затруднительно, что можно наблюдать исходя из рисунков 15 и 16, т.к. области различных видов и даже различных групп плоидности сильно перекрываются. Для решения этой задачи актуален поиск признаков, определяющих архитектуру колоса, а именно, чем большее количество видоспецифических признаков будет изучено, тем с большей лёгкостью станет возможным распределять образцы растений по видам.

Совокупность собранного материала позволила создать ЦК колосьев различных видов пшеницы. С использованием созданной ЦК в будущем можно будет создать классификатор для разновидностей, который будет построен на основании видоспецифических признаков растений пшеницы. Образцы растений фотографируются и документируются. Далее проводится анализ изображений для занесения полученной информации в ЦК. На основании этого будет произведено компьютерное обучение для распознавания видов и разновидностей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Процесс фенотипирования (быстрая и корректная оценка морфологических параметров растений), тесно ассоциированный с классификацией видов, является одной из основополагающих задач в ходе выполнения селекционно-генетических экспериментов. В настоящее время используется ряд подходов для повышения эффективности фенотипирования колосьев пшеницы: реализация технологий анализа цифровых изображений, применение алгоритмов машинного обучения для обработки, а также устройство хранения информации в цифровых коллекциях (ЦК).

В последние два десятилетия систематика растений, включая пшеницы род *Triticum* L., активно пересматривается [31; 132-135]. Разработка современных подходов позволяет существенно увеличить объём информации о наследовании таксономически значимых признаков у видов злаковых, в частности пшеницы. Один из ведущих методов молекулярной цитогенетики - FISH - флуоресцентная *in situ* гибридизация играет ключевую роль при исследовании особенностей организации хромосом [28]. Значимость молекулярных подходов в таксономии ассоциирована с их применением в филогенетике, которая становится почти целиком молекулярной и потребностью в языке, терминологии более соответствующих мерономии и таксономии. Если базисом для новой таксономии следует считать филогенетическую (кладистическую) систему, которая включает молекулярную филогенетику как один из основных подходов в систематике («системной биологии»), то основой для новой мерономии выступают международные классификации и БД консервативных доменов, пространственных структур (фолдов), семейств белков, классов мРНК, интронов. Ключевое свойство таксономии – стабильность – реализуется посредством увеличения перечня достоверных голофилетических таксонов филогенетической системы.

Исследование хозяйственно важных признаков пшеницы по данным предшествующих работ легло в основу таксономии и эволюции пшениц при их рассмотрении в историческом аспекте [136]. Благодаря современным молекулярным методам, в частности, данным об изменчивости нуклеотидных последовательностей, становится возможным не только установить филогенетические взаимоотношения, но и провести оценки дивергенции таксонов рода с учётом временных рамок. Следует отметить, что данные молекулярных методов исследования являются более корректными и объективными.

Наконец, важным аспектом по развитию систематики и генетики пшениц следует считать ЦК её видов и создание на их основе БД образцов растений. Для определения видовой принадлежности образца необходимо иметь полную информацию о морфологических признаках не только колоса, но и зерновки. Новые образцы растений с высокой вероятностью можно соотенести с определённым видом, зная ключевые видоспецифические структурные параметры колоса. Это позволяет осуществлять контроль за подлинностью образцов и сохранять аутентичность коллекций.

ВЫВОДЫ

1. Таксономически значимые качественные признаки, определяющие архитектуру колоса (спельтоидность, компактность, округлозёрность, ветвистоколосость, тетраостость, полоникумность) переведены в количественные и установлены базисные параметры колоса для автоматического разделения цифровых изображений, посредством применения биоинформатического анализа и нейронных сетей, то есть признаки, описывающие форму колоса (индексы округлости и закруглённости), физические размеры тела колоса (периметр колоса без остей, длина ломаной линии вдоль оси колоса) и площадь остей, связанные в своём проявлении с видоспецифическими признаками пшениц.

2. На основании гибридологического анализа и изучения характера наследования тетраплоидных видов пшениц, моногенный тип наследования характерный для следующих видоспецифических признаков: спельтоидность, безостость, удлинённая колосковая чешуя, тетраостость, тип зубца на колосковой чешуе, плечо на колосковой чешуе, опушение колосковой чешуи, ветвистоколосость, использован для выделения реперных (типовых) образцов видов пшениц для расширения базы данных. Наследование остальных признаков пшениц требует дополнительного детального изучения (окраска колоса, наличие плешки на колосковой чешуе, дополнительная ость, борода у основания колоска, компактоидность, характер выраженности остистости).

3. Впервые создана цифровая коллекция колосьев видов пшениц на трёх уровнях плоидности по архитектонике колоса.

4. С помощью создания цифровых коллекций и применения биоинформатического анализа и методов машинного обучения возможно разделение цифровых изображений колосьев по уровням плоидности. Созданный на её основе цифровой определитель лучше образных, так как

позволяет с высокой вероятностью определять видовую принадлежность тестируемых образцов.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АК – аминокислота

БД – база данных

ВИР – Всероссийский Институт Растениеводства

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

миРНК (miRNA) – малые интерферирующие рибонуклеотиды

п.н. – пары нуклеотидов

ПЦР – полимеразная цепная реакция

СГК – селекционно-генетический комплекс

ЦМС – цитоплазматическая мужская стерильность

CNN (convolution neural net-works) – свёрточные нейронные сети

dNTP (Deoxyribonucleotide triphosphate) – смесь дезоксирибонуклеотидов

FISH (fluorescence *in-situ* hybridization) – флуоресцентная *in-situ* гибридизация

HCl – соляная кислота

ML (machine learning) – машинное обучение

MgCL₂ – хлорид магния

(NH₄)₂SO₄ – сульфат аммония

pH – водородный показатель

RELU (Rectified Linear Unit) – функция активации в нейронной сети

SNP (single nucleotide polymorphism) – однонуклеотидный полиморфизм

SSR (Site-specific recombinase) – сайт-специфическая рекомбиназа

t-SNE (t-distributed stochastic neighbor embedding) – нелинейный алгоритм снижения размерности

UTR (untranslated regions) – нетранслируемые области

WGS (Whole Genome Sequencing) – полное секвенирование генома

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Донгак М.М. Результаты исследования селекционных линий яровой пшеницы в республике Тыва / М.М. Донгак // The scientific heritage. — 2021. — № 74. — С. 3-6.
2. Дзюбенко Н.И. К оценке генетической эрозии экономически значимых дикорастущих видов бобовых растений на обследованных территориях Азербайджана и Грузии / Н.И. Дзюбенко // Междунар. науч.-практ. конф. «Генет. ресурсы культ. растений». — Санкт-Петербург: 2001. — С. 24-26.
3. Yadav I.S., Exploring genetic diversity of wild and related tetraploid wheat species *Triticum turgidum* and *Triticum timopheevii*. / I.S. Yadav, N. Singh, S. Wu, J. Raupp, D.L. Wilson, N. Rawat, B.S. Gill, J. Poland, V.K. Tiwari // J Adv Res. – 2023. - № 48. P. 47-60.
4. Дзюбенко Н.И. Коллекции генетических ресурсов растений ВИР: история и современное состояние / Н.И. Дзюбенко // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. Спб ВИР. — Санкт-Петербург: Т. 169, 2012. — С. 4-40.
5. Синская Е.Н. Историческая география культурной флоры (На заре земледелия) / Е.Н. Синская — Ленинград: Колос, 1969 — 480 с.
6. Goncharov, N. P. Genus *Triticum* L. taxonomy: The present and the future / N. P. Goncharov // Plant Systematics and Evolution. – 2011. – Vol. 295, №. 1. – P. 1-11.
7. Дорофеев В.Ф. Внутривидовая классификация пшеницы / В.Ф. Дорофеев // Докл. ВАСХНИЛ. — 1985. — № 9. — С. 3-5.
8. Afonnikov D.A. Methods of high-throughput plant phenotyping for large-scale breeding and genetic experiments / D.A. Afonnikov, M.A. Genaev, A.V. Doroshkov, E.G. Komyshev, T.A. Pshenichnikova // Russian journal of genetics. — 2016. — Vol. 52. – №. 7. — P. 688-701.

9. Li Y. Plant density effect on grain number and weight of two winter wheat cultivars at different spikelet and grain positions / Y. Li, Z. Cui, Y. Ni, M. Zheng, D. Yang, M. Jin, J. Chen, Z. Wang, Y. Yin // PloS one. — 2016. — Vol. 11. — №. 5. — P. 1-15.
10. Komyshev E.G. Evaluation of the SeedCounter, A Mobile Application for Grain Phenotyping / E.G. Komyshev, M.A. Genaev, D.A. Afonnikov // Frontiers in plant science. — 2017. — № 7. — P. 1990.
11. Дудка И.А. Словарь ботанических терминов / И.А. Дудка, С.П. Вассер, И.Н. Голубинский — Киев: Наукова Думка. Под общей редакцией д.б.н. И.А. Дудки, 1984 — 307 с.
12. Недосеко О.И. Методика изучения архитектоники крон бореальных видов ив / О.И. Недосеко // Педагогика высшей школы. — 2017. — Т. 10. - № 4-1. — С. 88-91.
13. Schwendener S. Das mechanische Prinzip im anatomischen Bau der Monocotylen mit verglichenen Ausblicken auf die anderen Pflanzenklassen / S. Schwendener — Leipzig: Engelmann, 1874 — 179 с.
14. Черемушкина В.А. Параллелизм в развитии жизненных форм видов рода *Kudrjaschevia* (Lamiaceae): онтогенез, архитектурный анализ / В.А. Черемушкина, А.Ю. Асташенков, Д.С. Саидов // Сибирский экологический журнал. — 2020. — Т. 27. - № 3. — С. 322-333.
15. Забиров Р.Г. Формирование архитектуры побега и продуктивности растений пшеницы в условиях высокогорий Памира / Р.Г. Забиров // Наука и инновация. — 2020. — № 1. — С. 98-102.
16. Roushannafas T. Geometric morphometric analysis of Neolithic wheat grains: insights into the early development of free-threshing forms / T. Roushannafas, A. Bogaard, M. Charles // Veget Hist Archaeobot — 2023. - № 32. P. 597–613.
17. Фесенко М.А. Архитектоника листовой системы растений и ее использование в селекции гречихи: специальность 06.01.05 «Селекция и семеноводство

сельскохозяйственных растений»: Автореферат на соискание кандидата сельскохозяйственных наук / М.А. Фесенко — Санкт-Петербург, 1997. — 16 с.

18. Пронозин А.Ю. Автоматическое фенотипирование морфологии колоса тетра- и гексаплоидных видов пшеницы методами компьютерного зрения / А.Ю. Пронозин, А.А. Паулиш, Е.А. Заварзин, А.Ю. Приходько, Н.М. Прохошин, Ю.В. Кручинина, Н.П. Гончаров, Е.Г. Комышев, М.А. Генаев // Вавиловский журнал генетики и селекции. — 2021. — Т. 25. - № 1. — С. 71-81.
19. Fan M. Natural variants and editing events provide insights into routes for spike architecture modification in common wheat / M. Fan, X. Zhang, R. Nagarajan, W. Zhai, Y. Rauf, H. Jia, Z. Ma, L. Yan // The Crop Journal. – 2022. Vol. 5. - P. 1-16.
20. Чернухин В.А. Архитектоника генеративной зоны гречихи и ее роль в селекции: специальность 06.01.05 «Селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений»: Автореферат на соискание кандидата сельскохозяйственных наук / В.А.Чернухин — Новосибирск, 2000. — 19 с.
21. Дорофеев В.Ф., Пономарев В.И. Проблема полегания пшеницы и пути её решения / В.Ф. Дорофеев, В.И. Пономарев — Москва: ВНИИТЭИСХМСХ СССР, 1970 — 124 с.
22. Martinek P. Changes of spike morphology (multirow spike – MRS, long glumes – LG) in wheat (*Triticum aestivum* L.) and their importance for breeding / P. Martinek, J. Bednar // Proc. Intern. Conf. “Genetic collections, isogenic and alloplasmic lines”. — Novosibirsk: 2001. — P. 192-194.
23. Konopatskaia I. Spike morphology genes in wheat species (*Triticum* L.) / I. Konopatskaia, V. Vavilova, A. Blinov, N.P. Goncharov // Proc. Latv. Acad. Sci. Sect. B Nat. Exact. Appl. Sci.. — 2016. — Vol. 70. - № 6.— P. 345-355.
24. Goncharov N.P. Genus *Triticum* L. taxonomy: the present and the future / N.P. Goncharov // Plant Systematic and Evolution. — 2011. — № 295. — С. 1-11.

25. Устьянцев К.В. Гомология генов, контролирующих архитектуру вегетативных и генеративных органов ячменя и риса, и их использование для расширения биоразнообразия и в селекции пшеницы / К.В. Устьянцев, Н.П. Гончаров // Генетика. – 2019. – Т. 55. - № 5. – С. 506-515.
26. Feldman M. *Triticum* L. / M. Feldman, A. Levy // Wheat Evolution and Domestication – 2023. – № 10. - P. 365-526.
27. Гончаров Н.П. Сравнительная генетика пшениц и их сородичей / Н.П. Гончаров — 2 изд-е. — Новосибирск: Гео, 2012 — 523 с..
28. Александров О.С. Сравнительная молекулярно-цитогенетическая характеристика растений семейства *Cannabaceae* L. / О.С. Александров, Н.А. Яковин, М.Г. Дивашук, Г.И. Карлов // Молекулярно-генетические подходы в таксономии и экологии: тезисы докладов научной конференции (г. Ростов-на-Дону, 25–29 марта 2013 г.). — Ростов-на-Дону: 2013. - № 9. — С. 5.
29. de Queiroz K. Proposed new article on the date and authorship of names originally published with incomplete protologues / K. de Queiroz, P.D. Cantino, N. Cellinese // Bulletin of Phylogenetic Nomenclature. – 2023. – Vol. 1. - № 2. - P. 9–11.
30. Ghosal S. An explainable deep machine vision framework for plant stress phenotyping / S. Ghosal, D. Blystone, A.K. Singh, B. Ganapathysubramanian, S. Sarkar // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. — 2017. — Vol. 115. - №. 18. — P. 4613– 4618.
31. Гончаров Н.П. Таксономия и молекулярная филогения пшениц / Н.П. Гончаров, Е.Я. Кондратенко, А.Г. Блинов // Тезисы докладов научной конференции, г. Ростов-на-Дону, 25–29 марта 2013 г. — Ростов-на-Дону: 2013. - № 9. — С. 31.
32. Goncharov N.P. Evolutionary history of wheats — the main cereal of mankind / N.P. Goncharov, K.A. Golovkina, B. Kilian, S. Glushkov, A. Blinov, V.K. Shumny // Dobretsoval N, editor. Biosphere Origin and Evolution. —: Springer, 2008. — P. 407-419.

33. Vavilova V. Genetic variability of spelt factor gene in *Triticum* and *Aegilops* species / V. Vavilova, I. Konopatskaia, A.G. Blinov, E.Ya. Kondratenko, Yu.V. Kruchinina, N.P. Goncharov // *BMC Plant Biol.* — 2020. — № 20. — P. 310.
34. Tsunewaki K. Plasmon analysis in the *Triticum*-*Aegilops* complex / K. Tsunewaki // *Breeding Science.* — 2009. — Vol. 59. — №. 5. — P. 310.
35. Головнина К.А. Филогения А-геномов диких и возделываемых видов пшениц / К.А. Головнина, Е.Я. Кондратенко, А.Г. Блинов, Н.П. Гончаров // *Генетика.* — 2009. — Т. 45. - № 11. — С. 1540-1547.
36. Dubcovsky J. Genome plasticity a key factor in the success of polyploid wheat under domestication / J. Dubcovsky, J. Dvorak // *Science.* — 2007. — Vol. 316. — P. 1862–1866.
37. Rao M.V.P. Telocentric mapping of the awn inhibitor gene *Hd* on chromosome 4B of common wheat / M.V.P. Rao // *Cereal Res. Comm.* – 1981. – Vol. 9. – P. 335–337.
38. Simons K.J. Molecular characterization of the major wheat domestication gene *Q* / K.J. Simons, J.P. Fellers, H.N. Trick, Z. Zhang, Y.S. Tai, B.S. Gill // *Genetics.* — 2006. — № 172. — P. 547-555.
39. Zhang Z. Duplication and partitioning in evolution and function of homoeologous *Q* loci governing domestication characters in polyploid wheat / Z. Zhang, H. Belcram, P. Gornicki, M. Charles, J. Just, C. Huneau // *Proc Natl Acad Sci.* — 2011. — № 108. — P. 18737-18742.
40. Muramatsu M. Dosage effect of the spelta gene *q* of hexaploid wheat / M. Muramatsu // *Genetics.* — 1963. — № 48. — P. 469-482.
41. Faris J.D. Genomic targeting and high-resolution mapping of the domestication gene *Q* in wheat / J.D. Faris, B.S. Gill // *Genome.* — 2002. — № 45. — P. 706-718.

42. Pourkheirandish M. On the origin of the non-brittle rachis trait of domesticated einkorn wheat / M. Pourkheirandish, F. Dai, S. Sakuma, H. Kanamori, A. Distelfeld, G. Willcox // *Front Plant Sci.* — 2018. — № 8. — P. 1-10.
43. Zhao Y. *Btr1-A* induces grain shattering and affects spike morphology and yield-related traits in wheat / Y. Zhao, P. Xie, P. Guan, Y. Wang, Y. Li, K. Yu // *Plant Cell Physiol.* — 2019. — № 60. — P. 1342-1353.
44. Sharma J.S. Genetic analysis of threshability and other spike traits in the evolution of cultivated emmer to fully domesticated durum wheat / J.S. Sharma, K.L.D. Running, S.S. Xu, Q. Zhang, A.R. Peters, S. Sharma // *Mol Genet Genomics.* Springer Berlin Heidelberg. — 2019. — № 294. — P. 757-771.
45. Nave M. Wheat domestication in light of haplotype analyses of the Brittle rachis 1 genes (*BTR1-A* and *BTR1-B*) / M. Nave, R. Avni, E. Çakır, V. Portnoy, H. Sela, M. Pourkheirandish // *Plant Sci.* — 2019. — № 285. — P. 193-199.
46. Sood S. The major threshability genes soft glume (*sog*) and tenacious glume (*Tg*), of diploid and polyploid wheat, trace their origin to independent mutations at non-orthologous loci / S. Sood, V. Kuraparthi, G. Bai, B.S. Gill // *Theor Appl Genet.* — 2009. — № 119. — P. 341-351.
47. Гончаров Н.П. Генетика адаптивности и архитектоника пшениц / Н.П. Гончаров, Е.Я. Кондратенко, В.Ю. Вавилова // *Механизмы устойчивости растений и микроорганизмов к неблагоприятным условиям среды: Сборник материалов Годичного собрания Общества физиологов растений России, Всероссийской научной конференции с международным участием и школы молодых ученых. В 2-х частях, Иркутск, 10–15 июля 2018 года.* — Иркутск: Институт географии им. В.Б. Сочавы Сибирского отделения Российской академии наук., 2018. — С. 13-16.
48. Stallknecht G.F. Alternative wheat cereals as food grains: einkorn, emmer, spelt, kamut, and triticale. In: J. Janick (Ed.) *Progress in new crops* / G.F. Stallknecht, K.M. Gilbertson, J.E. Ranney // — Alexandria: ASHS Press, 1996. — P. 156-170.

49. Ионов Э.Ф. Характеристика новой крупяной культуры-голозерной полбы, сорт Греммэ / Э.Ф. Ионов, А.Ф. Мережко, С.К. Тимербекова, Н.Э. ИONOва // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. — 2013. — № 171. — С. 287-288.
50. Кобылянский В.Д. Агробиологическая оценка образцов голозерной полбы в условиях Красноярской лесостепи / В.Д. Кобылянский, Н.А. Сурин, Н.М. Попова // Фундаментальные исследования. — 2013. — № (10). — С. 601-605.
51. van Slageren M. Concepts and nomenclature of the farro wheats, with special reference to emmer, *Triticum turgidum* subsp. *dicoccon* (*Poaceae*) / M. van Slageren, T. Payne // Kew Bull. — 2013. — № 68. — С. 477-494.
52. Гончаров Н.П. Эндемичные пшеницы Китая как ресурсы селекции / Н.П. Гончаров, Х. Фу // Генетичні ресурси рослин. — 2019. — № 25. — С. 11-25.
53. Arzani A. Cultivated ancient wheats (*Triticum* spp.): A potential source of health-beneficial food products / A. Arzani, M. Ashraf // Comprehensive Reviews Food Science Food Safety. — 2017. — Vol.16. - № 3. — P. 477-488.
54. Смекалова Т.Н. Новый подвид пшеницы *Triticum dicoccon* (Schränk) Schuebl. subsp. *nudicoccon* Kobyl. et Smekal. / Т.Н. Смекалова, В.Д. Кобылянский // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. — 2019. — Т.4. - № 180. — С. 148-151.
55. Головнина К.А. Анализ экспрессии гена Q, контролирующего ряд важных признаков пшениц, включенных в процесс доместикации и селекции [Expression analysis of Q gene, controlling of the important domestication and breeding wheat traits] / К.А. Головнина, А.Г. Блинов, В.И. Майоров // Letters VJ. — 2021. — № 7. — С. 172-175.
56. Chuck G. The maize tasselseed4 microRNA controls sex determination and meristem cell fate by targeting Tasselseed6/indeterminate spikelet1 / G. Chuck, R. Meeley, E. Irish, H. Sakai, S. Hake // Nat Genet. — 2007. — № 39. — P. 1517-1521.

57. Sormacheva I. Q gene variability in wheat species with different spike morphology / I. Sormacheva, K. Golovnina, V. Vavilova, K. Kosuge, N. Watanabe, A. Blinov // *Genet Resour Crop Evol.* — 2015. — № 62. — P. 837-852.
58. Zhao K. *Rht23 (5Dq)* likely encodes a Q homeologue with pleiotropic effects on plant height and spike compactness / K. Zhao, J. Xiao, Y. Liu, S. Chen, C. Yuan, A. Cao // *Theor Appl Genet Springer Berlin Heidelberg.* — 2018. — № 131. — P. 1825-1834.
59. Jiang Y. Re-acquisition of the brittle rachis trait via a transposon insertion in domestication gene Q during wheat de-domestication / Y. Jiang, Q. Chen, Y. Wang, Z. Guo, B. Xu, J. Zhu // *New Phytol.* — 2019. — № 224(2). — P. 961–973.
60. Golovnina K.A. Molecular phylogeny of the genus *Triticum* L. / K.A. Golovnina, S.A. Glushkov, A.G. Blinov, V.I. Mayorov, L.R. Adkison, N.P. Goncharov // *Plant Syst Evol.* — 2007. — № 264. — P. 195-216.
61. Агеева Е.В. Масса зерна колоса и масса тысячи зерен как признаки продуктивности у сортов яровой мягкой пшеницы разных групп спелости в условиях лесостепи Приобья / Е.В. Агеева, И.Н. Леонова, И.Е. Лихенко, В.В. Советов // *Письма в Вавиловский журнал генетики и селекции.* — 2021. — № 7(1). — С. 5-11.
62. Makanza R. High-throughput method for ear phenotyping and kernel weight estimation in maize using ear digital imaging / R. Makanza, M. Zaman-Allah, J.E. Cairns, J. Eyre, J. Burgueño, Á. Pacheco, B.M. Prasanna // *Plant methods.* — 2018. — Vol. 14. - №. 1.. — Н. 49.
63. Pound M.P. Deep learning for multi-task plant phenotyping / M.P. Pound, J.A. Atkinson, D.M. Wells, T.P. Pridmore, A.P. French // *Computer Vision Workshop (ICCVW), 2017 IEEE International Conference on.* — 2017. — С. 2055-2063.
64. Bi K. Non-destructive measurement of wheat spike characteristics based on morphological image processing / K. Bi, P. Jiang, L. Li, B. Shi, C. Wang // *TCSAE.* — 2010. — № 26. — P. 212-216.

65. Genaev M.F. Morphometry of the wheat spike by analyzing 2D images / M.F. Genaev, E.G. Komyshev, Y.V. Kruchinina, N.P. Goncharov, D.A. Afonnikov, N.V. Smirnov // *Agronomy*. — 2019. — № 7. — P. 390.
66. Романов Б.В. Коллекция видов пшениц: каталог / Б.В. Романов, Г.А. Козлечков, А.И. Клименко, А.В. Гринько — Ростов-на-Дону: ООО «АзовПринт», 2021 — 68 с.
67. Ляпунова О.А. Внутривидовое разнообразие твердой пшеницы (*Triticum durum* Desf.) / О. А. Ляпунова; ответственный редактор Н. П. Гончаров; Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова. — Санкт-Петербург: ВИР, 2022 — 80 с.
68. Гончаров Н.П. Определитель разновидностей мягкой и твердой пшениц / Н.П. Гончаров — 2 изд-е. — Новосибирск: Сибирское отделение Российской акад. наук, 2009 — 65 с.
69. Дорофеев В.Ф. Пшеницы мира: Видовой состав, достижения селекции, современ. проблемы и исходный материал / В.Ф. Дорофеев, М.М. Якубцинер, М.И. Руденко — Ленинград: Колос. Ленингр. отделение, 1976 — 487 с.
70. Tsujimoto H. Production of near-isogenic lines and marked monosomic lines in common wheat (*Triticum aestivum*) cv. Chinese Spring / H. Tsujimoto // *J. Hered.* — 2001. — Vol. 93. - №. 3. — P. 254-259.
71. Simons K.J. Molecular characterization of the major wheat domestication gene *q* / K.J. Simons, J.P. Fellers, H.N. Trick, Z. Zhang, Y.S. Tai, B.S. Gill, J.D. Faris // *Genetics*. — 2006. — Vol. 172. — P. 547-555.
72. Engledow F.L. The inheritance of glume-length in wheat crosses / F.L. Engledow // *J. Genet.* — 1923. — Vol. 13. — P. 79-100.
73. Haque M.A. Microsatellite mapping of genes for semi-dwarfism and branched spike in *Triticum durum* Desf. var. *ramosoobscurum* Jakubz. “Vetvistokolosaya” / M.A.

- Haque, P. Martinek, S. Kobayashi, I. Kita, K. Ohwaku, N. Watanabe, T. Kuboyama // Genet. Resour. Crop Evol. — 2012. — Vol. 59. — P. 831-837.
74. Головнина К.А. Филогения а-геномов диких и возделываемых видов пшениц / К.А. Головнина, Е.Я. Кондратенко, А.Г. Блинов, Н.П. Гончаров // Генетика. — 2009. — Т. 45. — № 11. — С. 1540-1547.
 75. Kuluev A.R. A molecular genetic research of the *Triticum sinskajae* A. Filat. et Kurk. by RAPD analysis and by comparing the nucleotide sequences of the variable intergenic region of the petN-trnC-GCA chloroplast genome and intron of the histone H3.2 gene. / A.R. Kuluev, R.T. Matnijazov, B.R. Kuluev, A.V. Chemeris // Ecological genetics. — 2018. Vol. 16. - № 1. P. 53-59.
 76. Филатенко А.А. Пшеница Синской: (Новый вид – *Triticum sinskajae* A. Filat. et Kurk.) / А.А. Филатенко, У.К. Куркиев // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. — 1975. — Т. 54. — № 1. — С. 239-241.
 77. Фляксбергер К.А. Хлебные злаки. Пшеница // Культурная флора СССР / К.А. Фляксбергер — Москва, Ленинград: Гос. изд. колх. совх. лит., 1935 — 434 с.
 78. Дорофеев В.Ф. Культурная флора СССР. Пшеница. / В.Ф. Дорофеев, А.А. Филатенко, Э.Ф. Мигушова — Ленинград: Колос, 1979 — 347 с.
 79. Чемерис А.В. Филогенетические отношения между диплоидными пшеницами - однозернянками / А.В. Чемерис, А.Р. Кулуев // Перспективы развития и проблемы современной ботаники: Материалы IV (VI) Всероссийской молодежной конференции с участием иностранных ученых, Новосибирск, 08–12 октября 2018 года. — Новосибирск: Академизд, 2018. — С. 139-142.
 80. Гончаров Н.П. Сравнительно-генетический анализ голозерной диплоидной пшеницы *Triticum sinskajae* и ее исходной формы *T. monosocum* / Н.П. Гончаров, К.А. Головнина, Е.Я. Кондратенко // Генетика. — 2007. — Т. 43. — № 11. — С. 1491–1500.

81. Kuluev A. Sequencing and analysis of complete plastid genomes of diploid wheats *Triticum sinskajae* and *Triticum monococcum* k-20970 / A. Kuluev, B. Kuluev, A. Chemeris // PREPRINT (Version 1) available at Research Square. - 2023.
82. Vavilov N.I. The law of homologous series in variation / N.I. Vavilov // J. Genet. — 1922. — № 12. — P. 47-89.
83. Вавилов Н.И. Закон гомологических рядов в наследственной изменчивости / Н.И. Вавилов — Москва, Ленинград: ОГИЗ-Сельхозгиз, 1935 — 56 с.
84. Попов И.Ю. Периодические системы и периодический закон в биологии / И.Ю. Попов — Санкт-Петербург, Москва: Тов-во науч. изд. КМК, 2008 — 223 с.
85. Родионов А.В. Закон гомологических рядов и систематика / А.В. Родионов, В.С. Шнеер, Е.О. Пунина // Генетика. — 2020. — Т. 56. — № 11. — С. 227-1238.
86. Мишечкина В.С. Цифровизация научных достижений как основа бионформатики в современном мире / В.С. Мишечкина, Н.Н. Колоколова // Эпоха науки. - 2022. - № 29. - С. 313-320.
87. Фомина Н.А. Гербарные коллекции в молекулярно-генетических исследованиях / Н.А. Фомина, О.Ю. Антонова, И.Г. Чухина, Т.А. Гавриленко // Turczaninowia. - 2019. — Т. 22. - №4. — С. 104-118.
88. Васильева О.Ю. Паспортизация объектов биоресурсной коллекции USU 44053 ЦСБС СО РАН с использованием цифровой семенотеки и цитолого-генетических методов / О.Ю. Васильева, С.Х. Вышегуров, М.В. Козлова, А.В. Агафонов, О.В. Дорогина // Журн. Сиб. федер. ун-та. Биология. - 2023. — Т. 16. - № 1. - С. 24–40.
89. Гончаров Н.П. От сохранения генетических коллекций к созданию национальной системы хранения генофондов растений в вечной мерзлоте / Н.П. Гончаров, В.К. Шумный // Вестник ВОГиС. — 2008. — Т. 12. - № 4. — С.509–523.

90. Kurina A.B. Genetic diversity of phenotypic and biochemical traits in VIR Radish (*Raphanus sativus* L.) germplasm collection / A.B. Kurina, D.L. Korniyukhin, A.E. Solovyeva, A.M. Artemyeva // *Plants*. – 2021. – V. 10. - № 9. – P. 1799.
91. Привалов Ф.И. Признаковые коллекции как инструмент улучшения использования в селекции генетических ресурсов растений / Ф.И. Привалов, С.И. Гриб, И.С. Матыс, А.Э. Авакян // *Земледелие и селекция в Беларуси*. – 2022. - № 58. - С. 277-282.
92. Бословяк К.А. Проблема обоснованности научных данных / К.А. Бословяк, А.А. Медова // *Лесной и химический комплексы - проблемы и решения: Сборник материалов по итогам Всероссийской научно-практической конференции, Красноярск, 02-04 сентября 2019 года*. - Красноярск: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Сибирский государственный университет науки и технологий имени академика М.Ф. Решетнева", 2019. - С. 425-428.
93. Meineke E.K. Biological collections for understanding biodiversity in the Anthropocene / E.K. Meineke, T.J. Davies, B.H. Daru, C.C. Davis // *Phil. Trans. Roy. Soc. B: Biological Sciences*. - 2018. - V. 374. - № 20170386. - P. 1–9.
94. Ellwood E.R. Phenology models using herbarium specimens are only slightly improved by using finer-scale stages of reproduction / E.R. Ellwood, R.B. Primack, C.G. Willis, J. HilleRis-Lambers // *Appl. Plant Sci*. - 2019. - V. 7. - № 3. - P. 1–9.
95. Ковтонюк Н.К. Цифровой гербарий ЦСБС СО РАН в глобальной информационной системе по биоразнообразию / Н.К. Ковтонюк, И.В. Хан, Е.А. Гатилова, Ю.А. Пшеничкина // *Растительный мир азиатской России*. - 2019. – Т.36. - № 4. – С. 68-73.
96. Sarker I.H. Machine learning: Algorithms, real-world applications and research directions / I.H. Sarker // *SN Computer Science*. – 2021. – Vol. 2. – № 3. – P. 160.

97. McLachlan G.J. Discriminant Analysis and Statistical Pattern Recognition / G.J. McLachlan — USA: Wiley Interscience, 2004. — 552 p.
98. Le Cessie S. Ridge estimators in logistic regression / S. Le Cessie, J.C. Van Houwelingen // Journal of the Royal Statistical Society: Series C (Applied Statistics). — 1992. — Vol. 41. — № 1. — P. 191-201.
99. Aha D.W. Instance-based learning algorithms / D.W. Aha, D. Kibler, M.K. Albert // Machine learning. — 1991. — Vol. 6. — № 1. — P. 37-66.
100. Keerthi S.S. Improvements to Platt's SMO algorithm for SVM classifier design / S.S. Keerthi, S.K. Shevade, C. Bhattacharyya, K.R.K. Murthy // Neural computation. — 2001. — Vol. 13. — № 3. — P. 637-649.
101. John G.H. Estimating continuous distributions in Bayesian classifiers / G.H. John, P. Langley // arXiv preprint arXiv. — 2013. - № 1302. — P. 4964.
102. Горбань А.Н., Россиев Д.А. Нейронные сети на персональном компьютере / А.Н. Горбань, Д.А. Россиев — Новосибирск: Новосибирский филиал Федерального государственного унитарного предприятия " Академический научно-издательский и книгораспространительский центр" Наука", 1996. —276 с.
103. Quinlan J.R. Induction of decision trees / J.R. Quinlan // Machine learning. — 1986. — Vol. 1. — № 1. — P. 81-106.
104. Breiman L. Random Forests. / L. Breiman // Machine Learning. — 2001. — Vol. 45. — № 1. — P. 5–32.
105. Shaw W.E. Machine vision for detecting defects on fruit and vegetables / W.E. Shaw // In Food Processing Automation I – Proceedings of the 1990 conference 50-59. St. Joseph, MI: ASAE. —: ASHS Press, 1990. — P. 50-59.
106. Tillet R.D. Image analysis for agricultural processes: A review of potential opportunities / R.D. Tillet // Journal of Agricultural Engineering Research. — 1991. — № 50. — P. 247-258.

107. Draper S.R. Preliminary observations with a computer based system for analysis of the shape of seeds and vegetative structures / S.R. Draper, A.J. Travis // *Journal of the National Institute of Agricultural Botany*. — 1984. — № 16(3). — P. 387–395.
108. Keefe P.D. The measurement of new characters for cultivar identification in wheat using machine vision / P.D. Keefe, S.R. Draper // *Seed Science and Technology*. — 1986. — № 14(3). — P. 715-724.
109. Lai F.S. Application of pattern recognition techniques in the analysis of cereal grains / F.S. Lai, I. Zayas, Y. Pomeranz // *Cereal chemistiy*. — 1986. — № 63(2). — P. 168–172.
110. Zayas I. Discrimination between wheat classes and varieties by image analysis / I. Zayas, F.S. Lai, Y. Pomeranz // *Cereal Chemistry*. - 1986. – № 63(1). – P. 52–56.
111. Zayas I., Discrimination of whole from broken com kernels with image analysis / I. Zayas, H. Converse, J. Steele // *Transactions of the ASAE*. – 1990. – № 35(5). – P. 1642–1646.
112. Zayas I. Discrimination between Arthur and Arcan wheats by image analysis / I. Zayas, Y. Pomeranz, F.S. Lai // *Cereal Chemistry*. – 1985. – № 62(6). – P. 478–480.
113. Zayas I., Pomeranz Y., Lai F.S. Discrimination of wheat and non-wheat components in grain samples by digital image analysis / I. Zayas, Y. Pomeranz, F.S. Lai // *Cereal Chemistry*. – 1989. – № 66(3). – P. 233–237.
114. Wigger W.D. Classification of fungal-damaged soybeans using color-image processing / W.D. Wigger, M.R. Paulsen, J.B. Litchfield, J.B. Sinclair // *ASAE Paper St. Joseph, MI: ASAE*. — 1988. — № 88. — P. 3053.
115. Крыловецкий А.А. Распознавание изображений элементов зерновых смесей методами глубокого обучения с использованием библиотек Keras и tensorflow / А.А. Крыловецкий, Д.М. Суходолов // *Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Системный анализ и информационные технологии*. — 2018. — № 2. — С. 139-148.

116. Николенко С., Кадури́н А., Архангельская Е. Глубокое обучение / С. Николенко, А. Кадури́н, Е. Архангельская — Санкт-Петербург: Питер, 2018 — 480 с.
117. [Электронный ресурс] // : — URL: <https://neurohive.io/ru/osnovy-data-science/activation-functions/>.
118. Резвая Е.П. Применение методов доменной адаптации в задаче классификации растений по изображениям их листьев / Е.П. Резвая, П.В. Гончаров, Г.А. Ососков // Системный анализ в науке и образовании. — 2020. — № 2. — С. 59-69.
119. Dobrovolskaya O.B. The study of genetic factors that determine the awned glume trait in bread wheat / O.B. Dobrovolskaya, A.E. Dresvyannikova, E.D. Badaeva, K.I. Popova, M. Travnickova, P. Martinek // Vavilovskii Zhurnal Genet Selektcii. — 2020. — Vol. 24(6). — P. 568-574.
120. Vavilova V.Yu. Genetic Variability of *Btr1* Genes In Tetraploid Wheat Species and *Aegilops Speltoides* Tausch. / V.Yu. Vavilova, I. Konopatskaia, A. Blinov, E.Ya. Kondratenko, Y.V. Kruchinina, N.P. Goncharov // Russian journal of genetics. — 2022. — Vol. 58. - № 6. — С. 684-697.
121. Avni R. Wild emmer genome architecture and diversity elucidate wheat evolution and domestication / R. Avni, M. Nave, O. Barad // Science. — 2017. — Vol. 97. — P. 93–97.
122. Генаев М.А. SpikeDroidDB - информационная система для аннотации морфометрических характеристик колоса пшеницы / М.А. Генаев, Е.Г. Комышев, Х. Фу, В.С. Коваль, Н.П. Гончаров, Д.А. Афонников // Вавиловский журнал генетики и селекции. — 2018. — Т. 22. - № 1. — С. 132-140.
123. Авдеев В.И. Новые данные по белковым маркерам ряда дикорастущих видов злаков Крыма и Приуралья / В.И. Авдеев, А.Ж. Саудабаева // Вестник Оренбургского Государственного Педагогического Университета. — 2014. — № 3(11). — С. 9-14.

124. Бадаева Е.Д. Эволюция *Triticum aethiopicum* Jakubz. с позиции хромосомного анализа / Е.Д. Бадаева, А.А. Шишкина, Н.П. Гончаров, Е.В. Зуев, Н.С. Лысенко, О.П. Митрофанова, А.Ю. Драгович, А.М. Кудрявцев // Генетика. – 2018. – Т. 54. - № 6. - С. 1–16.
125. Watanabe N. Genetic control of long glume phenotype in tetraploid wheat derived from *Triticum petropavlovskyi* Udacz. et Migusch. / N. Watanabe, I. Imamura // Euphytica. — 2002. — Vol. 128. — P. 211-217
126. Добровольская О.Б. Многоколосковые формы пшеницы – модели для изучения генетической регуляции развития соцветия / О.Б. Добровольская // Генетика. – 2020. – Т. 56, № 11. – С. 1250-1261.
127. Рожков Р.В. Генетический контроль тетраостости у пшеницы / Р.В. Рожков, Р.В. Криворученко, И.В. Коваленко // Вестн. Харьковского национального аграрного университета. – 2014. – Т. 2, № 32. – С. 70-76.
128. Жангазиев А.С. Генетические основы систематики пшеницы в роде *Triticum* L. / А.С. Жангазиев // Вестник КазНУ. Серия биологическая. – 2011. Т. 50. - № 4. – С. 64-70.
129. Гончаров Н.П. Наследование безостости у тетраплоидных видов пшениц / Н.П. Гончаров, Р.Л. Митина, Н.А. Анфилова // Генетика. — 2003. — Т. 39. - № 4. — С. 565-569.
130. Jantasuriyarat C. Identification and mapping of genetic loci affecting the free-threshing habit and spike compactness in wheat (*Triticum aestivum* L.) / C. Jantasuriyarat, M.I. Vales, C.J. Watson, O. Riera-Lizarazu // Theor Appl Genet. — 2004. — Vol. 108(2). — P. 261-273.
131. Sood S. The major threshability genes soft glume (*sog*) and tenacious glume (*Tg*), of diploid and polyploid wheat, trace their origin to independent mutations at non-orthologous loci / S. Sood, V. Kuraparthi, G. Bai // Theor. Appl. Genet. — 2009. — Vol. 119. — P. 341–351.

132. Романов Б.В. Номотетическая систематика видов рода *Triticum* / Б.В. Романов, Г.А. Козлечков, И.Ю. Сорокина // Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук. – 2013. – № 3. – С. 8-12.
133. Морозова З.А. Род *Triticum* L. Морфогенез видов пшеницы. / З.А. Морозова, В.В. Мурашев - Москва: Триада, 2009 - 228 с.
134. Авдулов Н.П. Карио-систематическое исследование семейства злаков / Н.П. Авдулов – Ленинград: Всесоюзная академия сельскохозяйственных наук имени Ленина, Институт растениеводства, 1931 – 429 с.
135. Кулуев А.Р. Современные представления о родственных взаимоотношениях в пшенично-эгилопсном альянсе / А.Р. Кулуев, Р.Т. Матниязов, Д.А. Чемерис, А.В. Чемерис // Биомика. – 2016. – Т. 8. - № 4. – С. 297-310.
136. Кручинина Ю.В. Систематика рода *Triticum* L.: история изучения и вектор развития. / Ю.В. Кручинина // Письма в Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2023. – Т. 9. - № 3. – С. 162-171.