



## Цитогенетические факторы снижения фертильности пыльцы и початка при засорении посевов тетраплоидной кукурузы триплоидными зерновками (*Zea mays* L.)

Э. Б. Хатефов<sup>1</sup>, А. А. Грушин<sup>2</sup>, В. Н. Бойко<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Волгоградская опытная станция – филиал ВИР, Волгоградская область, Россия

<sup>3</sup> Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Кубанская опытная станция – филиал ВИР, Краснодарский край, Россия

**Автор, ответственный за переписку:** Эдуард Балилович Хатефов, haed1967@rambler.ru

**Актуальность.** Засорение посевов тетраплоидной кукурузы триплоидными зерновками приводит к снижению урожая зерна и разрушению стабильности ее генома. Поиск причин разложения тетраплоидного генома, как и решение проблемы снижения семенной продуктивности в свободноопыляющихся посевах тетраплоидной кукурузы, актуально.

**Материалы и методы.** Объектом исследований служили сорта тетраплоидной зубовидной (к-23427) и сахарной (к-23426) кукурузы из коллекции ВИР, гибриды зубовидной (к-24735) и сахарной кукурузы (к-23425). Опыты заложены на в предгорной зоне Кабардино-Балкарии. Инцухт и гибридизацию проводили под пергаментными изоляторами. Окрашивание метафазных пластинок корешков кукурузы проводили реактивом Шиффа по Фельгену, а пыльцевых зерен – раствором Люголя.

**Результаты.** Триплоидные зерновки наравне с диплоидными способны прорасти и проявляют слабую фертильность. В результате слияния между мужскими гаметами триплоидных и женскими тетраплоидных растений происходит разбалансирование стабильности тетраплоидного генома, которое приводит к нарастающей деградации продуктивности сорта с каждой репродукцией семян. Цитологический анализ и результаты тест-кроссов ♀2n × ♂3n, ♀4n × ♂3n показали, что у самоопыленных триплоидных растений частота формирования диплоидных зерновок составляет 7,44%, триплоидных + анеуплоидных – 41,78%, тетраплоидных – 50,74%, а в тест-кроссах частота диплоидных – 18,22%, триплоидных + анеуплоидных – 63,83%, тетраплоидных – 36,15%. Анализ классов расщепления с определением критерия  $\chi^2$  Пирсона показал, что вместо ожидаемого расщепления  $1(2n) : 7(3n) + (Xn \pm 1x) : 1(4n)$  на самоопыленных триплоидных растениях формируются диплоидные, триплоидные + анеуплоидные и тетраплоидные зерновки в соотношении 2 : 13 : 16 соответственно, а в тест-кроссах на 2n- и 4n-генотипы происходит расщепление на диплоидные, триплоидные + анеуплоидные и тетраплоидные зерновки в соотношении 7 : 18 : 14 соответственно.

**Ключевые слова:** фертильность; мейоз; гибридизация; семенная продуктивность; гетероплоидные скрещивания

**Благодарности:** работа выполнена в рамках государственного задания согласно тематическому плану ВИР по проекту № 0481-2022-0001 «Структурирование и раскрытие потенциала наследственной изменчивости мировой коллекции зерновых и крупяных культур ВИР для развития оптимизированного генбанка и рационального использования в селекции и растениеводстве».

Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы.

**Для цитирования:** Хатефов Э.Б., Грушин А.А., Бойко В.Н. Цитогенетические факторы снижения фертильности пыльцы и початка при засорении посевов тетраплоидной кукурузы триплоидными зерновками (*Zea mays* L.). *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2022;183(1):135-146. DOI: 10.30901/2227-8834-2022-1-135-146

Original article

DOI: 10.30901/2227-8834-2022-1-135-146

## Cytogenetic factors decreasing the fertility of pollen and cobs during clogging of tetraploid maize with triploid grains (*Zea mays* L.)

Eduard B. Khatefov<sup>1</sup>, Aleksander A. Grushin<sup>2</sup>, Vladislav N. Boyko<sup>3</sup><sup>1</sup> N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, St. Petersburg, Russia<sup>2</sup> N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, Volgograd Experiment Station of VIR, Volgograd Province, Russia<sup>3</sup> N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, Kuban Experimental Station of VIR, Krasnodar Territory, Russia**Corresponding author:** Eduard B. Khatefov, haed1967@rambler.ru

**Background.** Clogging of tetraploid maize crops with triploid grains leads to a decrease in grain yield and the destruction of the genome's stability. Searching for the reasons of the tetraploid genome's decomposition as well as solving the problem of seed yield reduction in freely pollinated crops of tetraploid maize remains relevant.

**Materials and methods.** Cultivars of tetraploid dentate (k-23427) and sweet (k-23426) maize from VIR and dentate (k-24735) and sweet maize (k-23425) hybrids served as the material of the research. The experiments were carried out in the foothill zone of Kabardino-Balkaria. Incubation and hybridization were carried out under parchment insulators. Metaphase plates of maize roots were stained with Schiff's reagent according to Feulgen and pollen grains were stained with Lugol's solution.

**Results.** Triploid grains, along with diploid ones, were able to germinate and show poor fertility. As a result of the fusion between male gametes of triploid and female tetraploid plants, an imbalance in the stability of the tetraploid genome occurred, leading to increased degradation of the cultivar's productivity with each seed reproduction. A cytological analysis and the results of test crosses ♀2n × ♂3n, ♀4n × ♂3n showed that in self-pollinated triploid plants the frequency of diploid kernel formation was 7.44%; triploid + aneuploidy, 41.78%; tetraploid, 50.74%; and in test crosses the frequency of diploid ones was 18.22%; triploid + aneuploid, 63.83%; and tetraploid, 36.15%. The analysis of segregation classes with the determination of Pearson's  $\chi^2$  criterion showed that instead of the expected segregation 1(2n) : 7(3n) + (Xn±1x) : 1(4n), diploid, triploid + aneuploid and tetraploid kernels developed on self-pollinated triploid plants in the ratio of 2 : 13 : 16, respectively, and in test crosses for the 2n and 4n genotypes splitting into diploid, triploid + aneuploid, and tetraploid grains occurred in the ratio of 7 : 18 : 14, respectively.

**Keywords:** fertility, meiosis, hybridization, seed yield; heteroploid crosses

**Acknowledgments:** the research was performed within the framework of the State Task according to the theme plan of VIR, Project No. 0481-2022-0001 "Structuring and disclosing the potential of hereditary variation in the global collection of cereal and groat crops at VIR for the development of an optimized genebank and its sustainable utilization in plant breeding and crop production".

The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work.

**For citation:** Khatefov E.B., Grushin A.A., Boyko V.N. Cytogenetic factors decreasing the fertility of pollen and cobs during clogging of tetraploid maize with triploid grains (*Zea mays* L.). *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2022;183(1):135-146. DOI: 10.30901/2227-8834-2022-1-135-146

## Введение

Тетраплоидная кукуруза ( $4n = 40$ ), в отличие от диплоидной ( $2n = 20$ ), характеризуется более широким диапазоном коэффициента вариации селекционно ценных признаков, изменяющихся как в сторону повышения, так и снижения их значений. Но наиболее привлекательным для селекции остаются признаки крупного початка и зерновки, высокой урожайности листостебельной массы, их повышенной питательности и лучшей поедаемости КРС, повышенной устойчивостью к абиотическим и биотическим факторам среды, но несмотря на эти преимущества она не получила широкого распространения из-за низкой зерновой продуктивности початка при свободном опылении в посевах (Hatefov, Shcherbak, 2011). Как показали ранее проведенные цитологические и генетические исследования, причина снижения семенной продуктивности тетраплоидной кукурузы кроется в нарушении процессов нормального течения мейоза в мейоцитах вследствие высокой частоты нарушений при расхождении квадрилл ассоциаций гомологичных хромосом в мейозе. В процессе длительного селекционного отбора, проведенного в популяциях тетраплоидной кукурузы против высокой частоты квадрилл в мейоцитах в сторону предпочтительной бивалентной конъюгации гомологичных хромосом, удалось преодолеть низкую зерновую плодovitость початка и создать сорта тетраплоидной кукурузы, способные конкурировать по урожайности зерна с диплоидными гибридами (Hatefov, Shcherbak, 2011). При достижении стабильности мейотических процессов в геноме и сопряженного с ним высокого уровня семенной продуктивности початка, у тетраплоидных сортов, у селекционеров возникает проблема сохранения ее стабильности в последующих репродукциях.

В свободно опыляющихся производственных посевах тетраплоидной кукурузы с течением времени неизбежны ее реципрокные скрещивания с диплоидными генотипами (при отсутствии пространственной изоляции от посевов диплоидной кукурузы) либо возникновение спонтанных геномных мутаций, приводящих к возникновению диплоидных генотипов внутри тетраплоидной популяции. В таких популяциях с каждой генерацией идет накопление гетероплоидных генотипов, приводящих к быстрому разбалансированию тетраплоидного генома за счет постоянно возрастающих нарушений расхождения гамет в мейозе и образования анеуплоидов. У растений анеуплоидные генотипы жизнеспособны (Hengy et al., 2005, 2010) и легко скрещиваются с тетраплоидными растениями. Как следствие такого нарушения мы наблюдаем быструю динамику снижения фертильности пыльцы и семенной продуктивности (озерненности) початка тетраплоидной кукурузы, сводящую на нет всю многолетнюю селекционную работу по ее улучшению. Возможно, аналогичные процессы могут происходить и на других зерновых культурах сельскохозяйственных растений с тетраплоидным геномом, относящихся к перекрестникам (рожь, кукуруза, подсолнечник, гречиха и др.). Исследования характера и частоты гетероплоидии при засорении посевов тетраплоидной кукурузы диплоидными и триплоидными растениями актуальны.

Цель исследования – определить частоту возникновения гетероплоидных гамет при реципрокных скрещиваниях между диплоидной и тетраплоидной кукурузой, приводящих к снижению урожая и вырождению тетраплоидной кукурузы в свободноопыляющихся посевах.

## Материал и методика

Исследования были проведены на сорте тетраплоидной зубовидной кукурузы 'Тетра-1' (к-23427) и сорте тетраплоидной сахарной кукурузы 'Баксанская сахарная' (к-23426), а в качестве источника диплоидной пыльцы использовали гибриды зубовидной кукурузы 'Камилла СВ' (к-24735) и сахарной кукурузы 'Ника 353' (к-23425) из коллекции Всероссийского института генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР). Соответственно, источниками доминантных аллелей гена *Su2* были тетраплоидный сорт 'Тетра-1' (к-23427) и диплоидный гибрид 'Камилла СВ' (к-24735), а рецессивных *su2* – тетраплоидный сорт 'Баксанская сахарная' (к-23426) и диплоидный гибрид 'Ника 353' (к-23425). Мутантный ген *su2* в гомозиготном состоянии фенотипически проявляется в виде сморщенных полупрозрачных зерновок за счет высокого содержания декстринов в эндосперме, а в гетерозиготном генотипе формируется зерновка мучнистой консистенции с крахмалом. На початке зерновки с гомозиготами *su2su2* легко отличимы фенотипически от зерновок с доминантной аллелью *Su2Su2* или *Su2Su2*. Перенос пыльцы осуществляли искусственно под пергаментным изолятором.

Полученные в результате гетероплоидных реципрокных скрещиваний триплоидные растения самоопылялись под пергаментными изоляторами. Инцухт проводили на пяти початках для каждой триплоидной гибридной комбинации. Всего было получено 10 самоопыленных (инцухт) початков с триплоидными зерновками  $F_1$  и 50 початков  $F_2$  репродукции. Полученные на самоопыленных триплоидных ( $3n$ ) початках гетероплоидные зерновки распределяли на четыре группы по размеру и выполненности эндосперма на предполагаемые  $2n$ ,  $3n$ ,  $4n$  и  $Xn\pm 1x$  (анеуплоиды). К группе  $Xn\pm 1x$  были отнесены все зерновки с неопределенным генотипом, которые не могли быть отнесены к  $2n$ -,  $3n$ - или  $4n$ -группам.

Все зерновки из четырех групп были высеяны в грунт, на селекционном участке. Для проведения цитологического анализа по определению плоидности в каждой группе отбирали по 10 зерен и проращивали в чашках Петри до появления первичного корешка. Корешки фиксировали в ацеталкоголе и далее проводили окрашивание препаратов реактивом Шиффа по Фельгену (Romeis, 1989) с горячим гидролизом и мацерацией целлюлазой из *Aspergillus niger* и анализ метафазных пластинок по З. П. Паушевой (Pausheva, 1988). Цитологические исследования проводили на большом исследовательском световом микроскопе Carl Zeiss Jena (ГДР) при увеличении  $90 \times 15$  в проходящем свете с синим фильтром. Просматривали по 5 метафазных пластинок для каждого корешка и подсчитывали число хромосом в соматических клетках. Проростки затем переносили в грунт для укоренения и проведения в дальнейшем тест-кросса вместе с остальными зерновками этой группы, не участвовавшими в цитологическом анализе.

Дальнейшее массовое ранжирование растений по плоидности проводили методом тест-кросса на диплоидный и тетраплоидный тестеры. Окрашивание пыльцевых зерен проводили раствором Люголя на пыльце, собранной с триплоидных растений. Для проведения тест-кросса использовали в качестве материнской формы как диплоидные ( $2n$ ), так и тетраплоидные ( $4n$ ) тестеры, гомозиготные по доминантным (к-24735, к-23427) и рецессивным (к-23426, к-23425) аллелям гена *su2*. Отцовские триплоидные реципрокные гибридные растения

имели генотип *Su2Su2su2* и *Su2su2su2*. Всего получено 200 початков тест-кроссов.

После созревания початков проводили подсчет зерновок и определяли их пloidность по результатам тест-кроссов с диплоидными и тетраплоидными тестерами, несущих доминантные и рецессивные аллели гена *su2*. На початках учитывали общее число зерен, из них – число сахарных зерновок, несущих гомозиготные аллели гена *su2*, и к числу зерновок с доминантным геном *Su2*. Опыты были заложены на территории НПО № 1 Нартан Института сельского хозяйства Кабардино-Балкарского научного центра РАН, в предгорной зоне Кабардино-Балкарии (КБР), в 2007–2010 гг. В целом за период проведения исследований рост и развитие кукурузы проходили при избытке тепла и дефиците влаги. Фенологические наблюдения проводились согласно методическим указаниям ВИР по изучению и поддержанию образцов коллекций кукурузы (Shmagaev, Matveeva, 1985). Статистическую обработку данных по определению критерия Пирсона  $\chi^2$  проводили при помощи пакета программ Statistica 10.0.

Схема скрещиваний в опыте:

**1 год (2007):**

1. ♀4n(к-23426) × ♂2n(к-24735) → F<sub>1</sub>3n(генотип *Su2su2su2*)
2. ♀2n(к-23425) × ♂4n(к-23427) → F<sub>1</sub>3n(генотип *Su2Su2su2*)

**2 год (2008):**

1. 3n(*Su2su2su2*) инкухт
  2. 3n(*Su2Su2su2*) инкухт
- Тест-кроссы 3n растений с генотипами *Su2Su2su2* и *Su2su2su2*

1. ♀4n(к-23426) × ♂3n(*Su2su2su2*)
2. ♀4n(к-23427) × ♂3n(*Su2su2su2*)
3. ♀2n(к-24735) × ♂3n(*Su2su2su2*)
4. ♀2n(к-23425) × ♂3n(*Su2su2su2*)
5. ♀4n(к-23426) × ♂3n(*Su2Su2su2*)
6. ♀4n(к-23427) × ♂3n(*Su2Su2su2*)
7. ♀2n(к-24735) × ♂3n(*Su2Su2su2*)
8. ♀2n(к-23425) × ♂3n(*Su2Su2su2*)

**3 год (2009):** тест-кроссы предполагаемых 2n, 3n+Xn±1x, 4n зерновок

1. ♀4n(к-23426) × ♂2n
2. ♀4n(к-24735) × ♂2n
3. ♀4n(к-23426) × ♂3n+Xn±1x
4. ♀4n(к-24735) × ♂3n+Xn±1x
5. ♀4n(к-23426) × ♂4n
6. ♀4n(к-24735) × ♂4n

### Результаты и обсуждение

Растения тетраплоидной и диплоидной кукурузы при отсутствии изоляции легко скрещиваются между собой, образуя на початке триплоидные зерновки без эндосперма (рис. 1, А) (Rhoades, 1936). Вопреки распространенному мнению о слабой жизнеспособности и плодовитости триплоидных растений (Wang et al., 2016), было установлено, что триплоидные зерновки кукурузы, полученные в результате реципрокных скрещиваний между диплоидной и тетраплоидной кукурузой, вполне жизнеспособны и частично фертильны (рис. 1, Б).

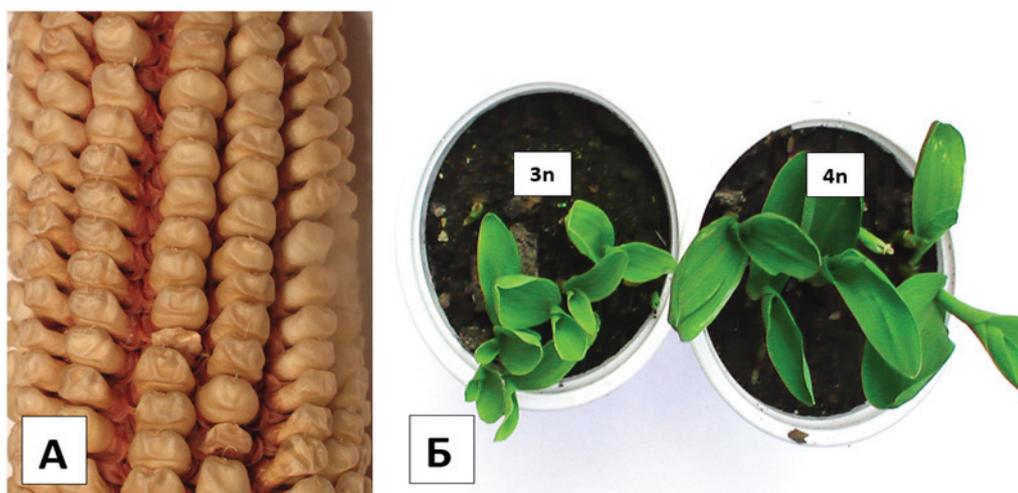
Несмотря на почти полное отсутствие эндосперма в триплоидных зерновках, при условии оптимальной влагообеспеченности и питательности почвы они дают слабые ростки с узкими, удлинёнными листочками, которые затем в процессе вегетации могут развиваться

в мощные растения, превышающие тетраплоидные и диплоидные растения по высоте. Гибридные триплоидные растения выметывают мощную метелку и проявляют слабую и среднюю фертильность, формируя в пыльниках пыльцевые зерна со сниженной фертильностью вследствие полного или частичного нарушения накопления в них крахмала. При окрашивании раствором Люголя пыльцы, собранной с триплоидного растения кукурузы, можно легко обнаружить жизнеспособные пыльцевые зерна по синей окраске (темные), тогда как анеуплоидные, нежизнеспособные пыльцевые зерна остаются неокрашенными (светлые).

Пыльца триплоидных растений кукурузы одинаково прорастает и участвует в процессе слияния гамет как на рыльцах диплоидных и тетраплоидных растений, так и на собственных рыльцах при самоопылении (инкухт, инбридинг). При этом на самоопыленных початках триплоидной кукурузы завязываются зерновки с различной пloidностью и развитием эндосперма.

Следует отметить, что игнорирование рисков засорения тетраплоидных посевов диплоидными и триплоидными генотипами может привести к полному разрушению тетраплоидного генома (Khatfov, Matveeva, 2018; Khatfov et al., 2018). При проведении исследований по сбору пыльцы были использованы стерильные пергаментные изоляторы на мужских и женских соцветиях, предотвратившие случайное попадание чужеродной пыльцы на стерильные рыльца. Анализы результатов реципрокных скрещиваний между диплоидной и тетраплоидной кукурузой и расщепления их гибридного триплоидного потомства показал, что при нарушении нормального соотношения пloidности между зародышем и эндоспермом в зерновке происходит нарушение формирования полноценного эндосперма. На початке развиваются жизнеспособные гибридные триплоидные зародыши со щитком, а вместо эндосперма образуются пустые или слабо выполненные щуплые зерновки с полным или частичным отсутствием крахмала в эндосперме (см. рис. 1, А).

Ранее было установлено, что при гомопloidном скрещивании у диплоидных и тетраплоидных генотипов соотношения пloidности зародыша и эндосперма остается классическим – 2 : 3 соответственно и зерновки на початке формируются полноценными, с нормально сформированным эндоспермом. При гетеропloidном скрещивании у формирующихся на початке триплоидных зерновок без эндосперма (либо сильно редуцированным эндоспермом) наблюдается два варианта этих соотношений в зависимости от роли родителей в схеме реципрокных скрещиваний, это 3 : 4 и 3 : 5 для гибридов ♀2n × ♂4n и ♀4n × ♂2n соответственно (табл. 1). Независимо от роли родителей в схеме реципрокных скрещиваний, сформировавшийся зародыш имеет триплоидный геном и вполне жизнеспособен, если прорастание и развитие проростка на начальных этапах онтогенеза происходит в оптимальных условиях. По достижении триплоидным растением фазы цветения метелка формирует слабо развитые пыльники с низкой пыльцеобразующей способностью и фертильностью пыльцы (рис. 2). В случае отсутствия оптимальных условий роста у триплоидных зерновок затрудняется процесс прорастания из-за отсутствия в аномальном, неразвитом эндосперме достаточного запаса крахмала и других питательных веществ. Отсутствие на початке полноценных зерновок существенно снижает продуктивность початка и, как следствие этого, снижается урожай зерна.



**Рис. 1.** Зерновки триплоидной кукурузы (А) на диплоидном початке (слева) и проростки (Б) триплоидной кукурузы (справа)

**Fig. 1.** Triploid maize kernels (A) on a diploid cob (left), and seedlings (Б) of triploid maize (right)

**Таблица 1.** Развитие зародыша и эндосперма в зерновке при моноплоидных и гетероплоидных скрещиваниях между диплоидной (2n) и тетраплоидной (4n) кукурузой (по: Hatefov, 2012)

**Table 1.** The development of the embryo and endosperm in the grain during monoploid and heteroploid crosses between diploid (2n) and tetraploid (4n) maize (from: Hatefov, 2012)

Параметры зерновки	Компоненты зерновки	Комбинации			
		♀ 2n × ♂ 2n	♀ 4n × ♂ 4n	♀ 2n × ♂ 4n	♀ 4n × ♂ 2n
Плоидность, n	зародыш	2	4	3	3
	эндосперм	3	6	4	5
Соотношение	зародыш: эндосперм	2 : 3	2 : 3	3 : 4	3 : 5
Состояние	зародыш	развит	развит	развит	развит
	эндосперм	развит	развит	не развит	не развит



**Рис. 2.** Пыльники диплоидной, триплоидной и тетраплоидной кукурузы

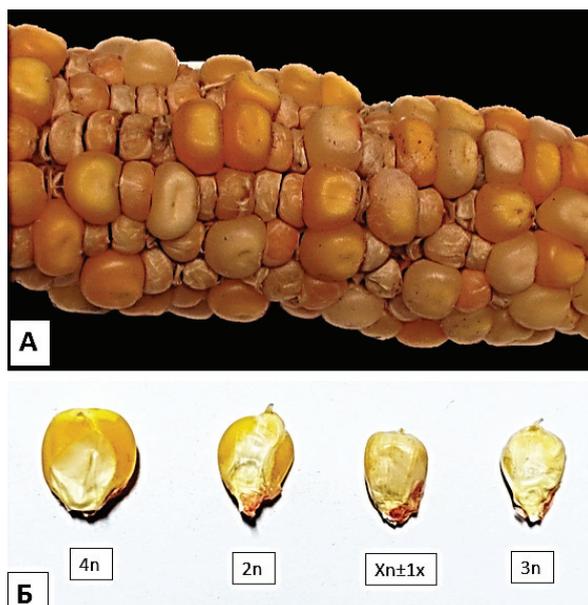
**Fig. 2.** Anthers of diploid, triploid and tetraploid maize

На первом этапе исследований были созданы реципрокные гибридные комбинации по схеме  $\text{♀}4n(\text{к-23426}) \times \text{♂}2n(\text{к-24735}) \rightarrow F_1 3n$  и  $\text{♀}2n(\text{к-23425}) \times \text{♂}4n(\text{к-23427}) \rightarrow F_1 3n$ . В обеих схемах скрещиваний были получены триплоидные зерновки на початках с генотипом зародыша *Su2su2su2* и *Su2Su2su2* соответственно.

На втором этапе скрещиваний были проведены инцухты и тест-кроссы триплоидных растений обоих генотипов. Початки самоопыленных триплоидных растений сформировали зерновки различной выполненности и размеров. После созревания початка и его обрушивания все зерновки были распределены на четыре класса по их размеру и выполненности эндосперма (рис. 3).

В случае совпадения пloidности материнской и отцовской форм на гибридном початке всегда завязываются полноценные зерновки. Если завязывались триплоидные (щуплые) зерновки, исходную отцовскую форму приравнивали к противоположному по пloidности тестера генотипу (гетеропloidной комбинации), а при завязывании на обоих тестерных початках гетеропloidных зерновок тестируемую линию относили к триплоидному или анеупloidному генотипу.

Окрашивание метафазных пластинок двухдневных проростков анализируемых зерновок реактивом Шиффа по Фельгену (Pausheva, 1988) (рис. 4) показало, что распределение на генотипы с предполагаемым уров-



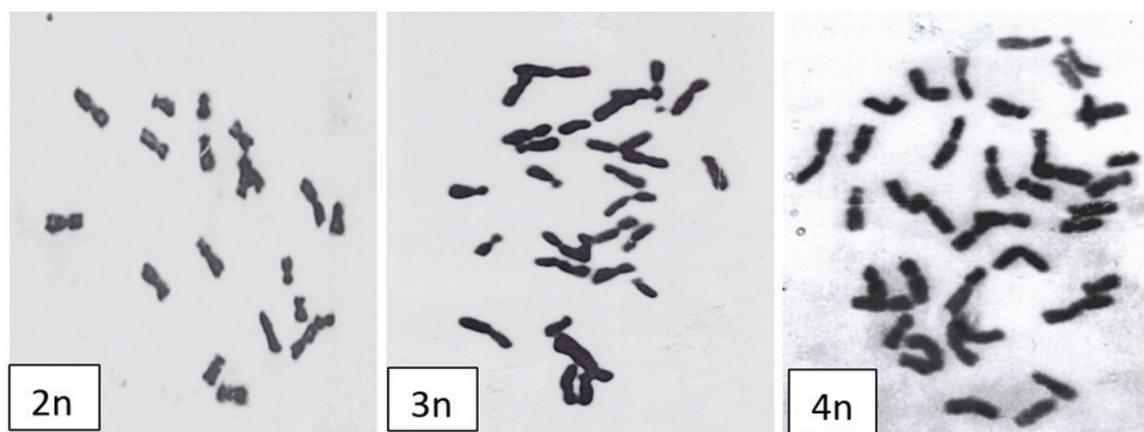
**Рис. 3.** Разнопloidные зерновки на самоопыленном триплоидном початке (А) и распределение зерновок самоопыленного триплоидного початка кукурузы по размерам на предполагаемые генотипы 4n, 2n, Xn±1x и 3n (Б). В Xn±1x включены все зерновки, геном которых, возможно, отличается от генома 4n, 2n и 3n по числу хромосом

**Fig. 3.** Maize kernels with different ploidy in an inbred triploid ear (A) and size distribution of kernels for the putative 4n, 2n, Xn ± 1x and 3n genotypes of inbred triploid ears of maize (B). Xn ± 1x includes all grains whose genome may differ from the 4n, 2n, and 3n genome by the number of chromosomes

Параллельно с инцухтом триплоидных растений была проведена их гибридизация в тест-кроссах с переносом пыльцы триплоидного растения на рыльца початков диплоидных и тетраплоидных тестеров. На этих початках после созревания также сформировались зерновки различной пloidности (см. рис. 3, А), которые тоже были разделены на четыре класса по размеру и выполненности эндосперма (см. рис. 3, Б). Фенотипически диплоидные и тетраплоидные зерновки трудно отличимы друг от друга по размеру зерновки, тогда как анеупloidные и прочие зерновки характеризуются мелкосемянностью, редуцированным эндоспермом и зародышем, а триплоидные – отсутствием эндосперма. Поэтому для подтверждения истинности предполагаемой пloidности выщипавшихся в потомстве тест-кроссов разных генотипов были проведены повторные тест-кроссы с 4n-тестерами. Пыльцу с анализируемого растения переносили на початки 2n- и 4n-тестеров в пергаментных изоляторах. Истинность диплоидного и тетраплоидного генома подтверждалась в том случае, если на соответствующем по пloidности тестерном початке завязывались полноценные (выполненные) зерновки.

нем пloidности по размеру зерновки не в полной мере соответствовало реальным данным. Результаты тест-кросса показали, что в группу предполагаемых тетраплоидных зерновок иногда попали диплоидные, сформировавшие крупные зерновки вследствие эффекта гетерозиса.

Несмотря на большую трудоемкость, цитологический анализ остается наиболее точным методом определения пloidности генома зерновок, если у исследователя нет возможности провести тест-кроссы. Проведение тест-кроссов удобно тем, что позволяет протестировать в полевых условиях большой объем селекционного материала, заменяя более трудоемкий для таких объемов цитологический анализ и который можно применить в том случае, когда результаты тест-кросса вызывают сомнения. Зерновки, отнесенные в группу Xn±1x, плохо прорастали либо не прорастали совсем, проростки были слабо жизнеспособными, с очень тонкими и хрупкими корешками, поэтому были исключены из цитологического анализа. После взятия проб корешков для проведения цитологического анализа у части исследуемого материала все проростки высаживали в грунт, каждый в свою



**Рис. 4.** Метафазные пластинки диплоидной (2n), триплоидной (3n) и тетраплоидной (4n) кукурузы (увеличение микроскопа 90 × 15)

**Fig. 4.** Metaphase plates of diploid (2n), triploid (3n) and tetraploid (4n) maize (microscope zoom 90 × 15)

группу, и после укоренения и восстановления нормального развития вовлекались в тест-кроссы наравне с другими растениями из одной выборки, не участвовавшими в цитологическом анализе.

Анализ фенотипического расщепления зерновок в потомстве триплоидных растений показал, что при инцукте триплоидных растений, на триплоидных початках завязываются диплоидные, тетраплоидные, триплоидные и анеуплоидные зерновки с частотой, отличающейся от ожидаемого расщепления 1 : 2 : 1. Фактически в F<sub>2</sub> частота диплоидных зерновок составляет 7,44%, триплоидных + анеуплоидных – 41,78%, тетраплоидных – 50,74% (табл. 2).

При этом во всех гетероплоидных комбинациях развиваются вполне жизнеспособные и достаточно фертильные триплоидные растения. По результатам расщепления в потомстве зерновок, несущих гомо- и гетерозиготы аллелей гена сахарного эндосперма, было установлено, что фенотипическое расщепление по гену *su2* (а

для диплоидных зерновок составляет 2A : 1a, для триплоидных – 3A : 1a, и тетраплоидных – 4A : 1a.

Экспериментальные данные показали (табл. 3), что образующиеся на триплоидном растении пыльцевые зерна, несущие аномальное число хромосом в спермиях, в результате прорастания на рыльцах и слияния с яйцеклетками тетраплоидных растений нарушают баланс тетраплоидного генома и, как следствие этого, приводят к нарушениям нормального течения мейоза. Фактически это выражается в полном или частичном редуцировании ткани эндосперма и дефективности зерновки, опосредованно приводящем к снижению урожая зерна. Фенотипическое проявление сигнальных генов сахарного эндосперма зерновки в выщепляющихся генотипах, несущих гомозиготные аллели гена *su2*, подтверждает способность пыльцы триплоидных растений прорастать на рыльцах и вступать в процесс слияния гамет и образовывать зиготы у тетраплоидных и диплоидных растений (рис. 5).

**Таблица 2.** Частота (%) расщепления зерновок по ploидности генома и состоянию аллелей гена *Su2* при инцукте потомства триплоидных гибридов с генотипом (*Su2su2su2*) и (*Su2Su2su2*) (по: Khatefov, Malukhov, 2007)

**Table 2.** Frequency (%) of grains split according to the genome's ploidy and the state of the *Su2* alleles in the progeny of triploid hybrids with the genotypes (*Su2su2su2*) and (*Su2Su2su2*) during inbreeding (from: Khatefov, Malukhov, 2007)

Плоидность зерновки, n	Частота выщепления зерновок, %	Соотношение и состояние аллелей сигнального гена в зерновках	Фактическое расщепление в F <sub>2</sub> , (%)	
			Генотип <i>Su2su2su2</i>	Генотип <i>Su2Su2su2</i>
4	50,74	4 <i>Su2</i> -	47,75	50,75
		1 <i>su2</i>	3,00	0,00
3*	41,78	3 <i>Su2</i> -	35,81	41,79
		1 <i>su2</i>	5,96	0,00
2	7,44	2 <i>Su2</i> -	4,48	5,98
		1 <i>su2</i>	3,00	1,48
Сумма	100%	-	100%	100%

Примечание: к сумме 3n-зерновок отнесены также все анеуплоидные генотипы

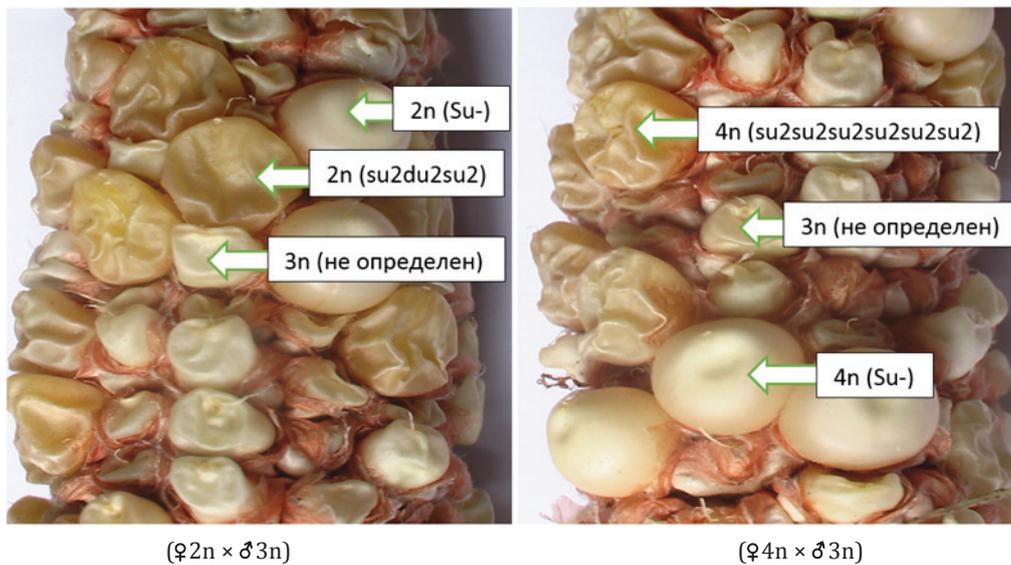
Note: the sum of 3n kernels also includes all aneuploid genotypes

**Таблица 3.** Возможные генотипы зародыша и эндосперма, формирующиеся при гибридизации между ♂ гаметами 3n-кукурузы генотипом *Su2Su2su2* (AAa) и *Su2su2su2* (Aaa) с ♀ гаметами 2n- и 4n-кукурузы, гомозиготных по гену *Su2*(A) и *su2*(a)

**Table 3.** Putative genotypes of the embryo and endosperm formed during hybridization between the 3n maize *Su2Su2su2* genotype (AAa) and *Su2su2su2* genotype (Aaa) with 2n and 4n maize gametes homozygous for *Su2* (A) and *su2*(a) gene

Генотип	Гаметы	♀2n				♀4n			
		зародыш		эндосперм		зародыш		эндосперм	
		A	a	AA	aa	AA	aa	AAAA	aaaa
♂ 3n (AAa)	A	2AA*	2Aa*	2AAA*	2Aaa*	2AAA	2Aaa	2AAAA	2Aaaaa
	a	1Aa*	1aa*	1Aaa*	1aaa*	1AAa	1aaa	1AAaa	1aaaa
	AA	2AAA	2AAa	2AAAA	2AAaa	2AAAA*	2AAaa*	2AAAAA*	2Aaaaa*
	Aa	4AAa	4Aaa	4AAAA	4AAaa	4AAAa*	4Aaaa*	4AAAAA*	4Aaaaa*
♂ 3n(Aaa)	A	1AA*	1Aa*	1AAA*	1Aaa*	1AAA	1Aaa	1AAAA	1Aaaaa
	a	2Aa*	2aa*	2Aaa*	2aaa*	2AAa	2aaa	2AAAAa	2aaaa
	Aa	4AAa	4Aaa	4AAAA	4Aaaa	4AAAa*	4Aaaaa*	4AAAAA*	4Aaaaa*
	aa	2Aaa	2aaa	2AAaa	2aaaa	2AAaa*	2aaaa*	2AAAAa*	2aaaaa*

Примечание: звездочкой отмечены генотипы, формирующие на початке зерновки с нормальным эндоспермом  
 Note: the asterisk marks the genotypes forming on the cob grains with a normal endosperm



**Рис. 5.** Пloidность и генотип эндосперма зерновок, сформированных в результате тест-кроссов триплоидных растений с диплоидным (♀2n × ♂3n) и тетраплоидным (♀4n × ♂3n) тестерами кукурузы

**Fig. 5.** Ploidy and genotype of grain endosperm formed as a result of test crosses of triploid plants with diploid (♀2n × ♂3n) and tetraploid (♀4n × ♂3n) maize testers

По этой причине не удается достоверно определить классическим методом соотношение доминантных и рецессивных аллелей гена *su2* по фенотипу в геноме зерновок, выщепляющихся в потомстве триплоидных гибридных растений. Применение тест-кроссов, несущих в своем геноме доминантные и рецессивные гомозиготы аллелей гена *su2*, позволяет разделить только генотипы, несущие рецессивные гомозиготы гена *su2*, от генотипов, несущих его доминантную аллель (см. табл. 2).

Теоретически ожидаемое расщепление пloidности зерновок в потомстве самоопыленных 3n-растений и тест-кроссов ♀2n × ♂3n, ♀4n × ♂3n соответствует соотношению 1(2n) : 7(3n) + (Xn±1x) : 1(4n) (табл. 4), но результаты анализа фактического расщепления зерновок по пloidности генома, полученного с помощью расчетов критерия χ<sup>2</sup> Пирсона (табл. 5), показали их несоответствие фактическому ни в случае самоопыления, ни при проведении тест-кроссов на 2n- и 4n-генотипы.

**Таблица 4. Теоретически ожидаемое расщепление плоидности зерновок при слиянии гамет 3n-растений и их тест-кроссов ♀2n × ♂3n, ♀4n × ♂3n кукурузы****Table 4. Theoretically expected splitting of the ploidy in kernels upon fusion of gametes of 3n maize plants and their test crosses ♀2n × ♂3n, ♀4n × ♂3n**

гаметы	2n	Xn±1x	1n
2n	4n	Xn±1x	3n
Xn±1x	Xn±1x	Xn±1x	Xn±1x
1n	3n	Xn±1x	2n

**Таблица 5. Определение классов расщепления зерновок по плоидности генома в потомстве самоопыленных 3n-растений и тест-кроссов ♀2n × ♂3n, ♀4n × ♂3n с помощью критерия χ<sup>2</sup>****Table 5. Defining splitting classes for the genome's maize grains segregated into different ploidies in the progeny of inbred 3n plants and test crosses ♀2n × ♂3n, ♀4n × ♂3n using the χ<sup>2</sup> criterion**

Параметры	Самоопыление			Тест-кросс		
	2n	3n+Xn±1x	4n	2n	3n+Xn±1x	4n
Ожидаемое отношение	2	13	16	7	18	14
Наблюдаемые величины	222	1295	1573	12379	30980	24557
Всего	3090			67918		
Ожидаемые величины, e	199	1295	1495	12190	31347	24381
Отклонение	23	0	78	189	-367	176
Квадратичное отклонение, d <sup>2</sup>	529	0	6084	35721	134689	30976
d <sup>2</sup> /e	2,65	0	4,07	2,93	4,29	1,27
χ <sup>2</sup>	6,72			8,49		
df	2			2		
χ <sup>2</sup> при p = 0,05	5,991			5,991		
χ <sup>2</sup> при p = 0,01	9,21			9,21		

Это несоответствие классическому расщеплению можно объяснить невозможностью разделения в условиях нашего опыта триплоидных и анеуплоидных зерновок. Наложение значений обоих генотипов не дает возможности подтвердить ожидаемое классическое расщепление. Анализ классов расщепления в условиях опыта показал, что при самоопылении триплоидных растений на початке фактически формируются диплоидные, триплоидные + анеуплоидные и тетраплоидные зерновки в соотношении 2 : 13 : 16 соответственно, а в тест-кроссах на 2n- и 4n-тестеры происходит расщепление на диплоидные, триплоидные + анеуплоидные, тетраплоидные зерновки в соотношении 7 : 18 : 14 соответственно. Такое различие в расщеплении объясняется тем, что при самоопылении триплоидного растения слияние гамет, несущих диплоидный или гаплоидный геном, происходит случайно с такими же яйцеклетками. В результате доля гетероплоидных комбинаций возрастает за счет снижения доли гомоплоидных, поэтому наиболее достоверные данные истинного расщепления следует считать по результатам тест-кросса.

Доля формирования нетипичных зерновок в посеве тетраплоидной кукурузы при загрязнении диплоидны-

ми и триплоидными растениями в сумме может достигать 49,25% уже во втором поколении. Результаты исследований показывают, что переопыление тетраплоидной популяции с диплоидными растениями в F<sub>1</sub> приводят к возникновению только триплоидных зерновок в общей массе урожая зерна, заметно снижая значения урожайности, а в случае переопыления с триплоидными растениями в F<sub>2</sub> формируются зерновки различной плоидности с гибридным геномом, которые наравне с падением общей урожайности зерна приводят к разбалансированию генома тетраплоидных растений, разрушая стабильность семенной продуктивности тетраплоидного сорта.

#### Обсуждение

Результаты исследований показали, что источником снижения зерновой продуктивности початков тетраплоидной кукурузы в свободно опыляющихся посевах является формирование триплоидных зерновок без эндосперма при перекрестном опылении между диплоидными и тетраплоидными растениями. Триплоидные в виде щуплых семян с неразвитым эндоспермом или тонких пленок, которые при недостаточно качественной кали-

бровке семян попадают в посевной материал и могут засорять семенной материал тетраплоидного сорта. Совместное произрастание триплоидных растений в посевах тетраплоидной кукурузы приводит к формированию на початках триплоидных и тетраплоидных растений щуплых, гетероплоидных гибридных зерновок с нарушенным числом хромосом. Разрушение тетраплоидного генома происходит в результате слияния мужских гамет, несущих как диплоидные, так и с большим или меньшим, чем диплоидное, числом хромосом, с диплоидными яйцеклетками и тетраплоидными центральными клетками зародышевого мешка, что подтверждается завязыванием на самоопыленных триплоидных початках диплоидных, триплоидных, тетраплоидных и анеуплоидных зерновок с гибридным генотипом, несущих сигнальные гены *su2* сахарного эндосперма. При этом частота диплоидных зерновок составляет 7,44%, а сумма триплоидных и анеуплоидных – 41,78%, тетраплоидных – 50,74%. Вопреки распространенному мнению о полной стерильности триплоидных растений кукурузы, анализ расщепления по фенотипу зерновок, завязавшихся на самоопыленном триплоидном початке и несущих доминантную и рецессивную аллели гена *Su2* и *su2*, показал, что гаплоидные, диплоидные и анеуплоидные гаметы независимо от роли пыльцевого родителя в гибридной комбинации способны к нормальному оплодотворению при попадании как на собственные триплоидные рыльца, так и на рыльца диплоидной и тетраплоидной кукурузы. Такие гибридные растения формируют мощные растения вследствие эффекта гетерозиса и продуцируют больше, чем линейные (инбредные) триплоидные растения, мужских и женских гамет с нарушенным числом хромосом, отличающимся от тетраплоидного, способных к гибридизации с тетраплоидными растениями. Слияние мужских гамет триплоидного растения с тетраплоидными либо собственными женскими гаметами приводит к формированию аномальных, щуплых зерновок с редуцированным эндоспермом на початках обоих генотипов, значительно снижая общий урожай зерна с посевной площади.

Сформировавшиеся на початке гибридные зерновки, при отсутствии отбора (сортопрочистки, калибровки) в свободно опыляющейся популяции, с каждой репродукцией увеличивают долю диплоидных триплоидных и анеуплоидных растений в посевах тетраплоидной кукурузы, что может привести к снижению урожайности зерна до 50% и быстрому вырождению сорта уже к третьей репродукции. Поэтому обязательное соблюдение норм пространственной изоляции в посевах между диплоидной и тетраплоидной кукурузой, а также строгое соблюдение чистоты и качества семенного материала (репродукций) являются обязательными условиями сохранения стабильности генома тетраплоидного сорта, высокого уровня фертильности, высокой семенной продуктивности початков в посевах тетраплоидной кукурузы.

### Заключение

Снижение фертильности пыльцы и продуктивности початка в свободно опыляющихся посевах тетраплоидной кукурузы является следствием разрушения тетраплоидного генома в результате гетероплоидных скрещиваний с триплоидными растениями. Деграция тетраплоидного сорта кукурузы в посевах при свободном опылении без пространственной изоляции от диплоидной происходит в три этапа.

На первом этапе происходит перекрестное опыление тетраплоидных растений с диплоидным генотипом (засорение) и формирование на тетраплоидных початках триплоидных зерновок.

На втором этапе происходит засорение посевного материала триплоидными зерновками и растениями в посевах, которое приводит к накоплению в семенном материале разноплоидных зерновок и общему снижению урожая зерна.

На третьем этапе происходит полное разрушение тетраплоидного генома и, как следствие этого, деграция тетраплоидного сорта уже в  $S_3$  репродукции.

Исследования показали, что зерновки триплоидной кукурузы слабо развиты и имеют редуцированный эндосперм, но способны прорасти в оптимальных условиях и формировать мощные гибридные растения с дифференциальной фертильностью. Фертильность триплоидных растений частично снижена за счет высокой частоты анеуплоидии, приводящей к нарушению накопления крахмала в пыльцевом зерне. Пыльцевые зерна с наличием крахмала, сформированные на триплоидных растениях кукурузы, способны прорасти на рыльцах как диплоидной, так и тетраплоидной кукурузы, независимо от роли родителя, и способствуют завязыванию на початках гибридных зерновок различной плоидности, размеров и выполненности эндосперма.

Анализ расщепления пыльцевых зерен триплоидных растений, перенесенных в тест-кроссах на диплоидные и тетраплоидные початки, показал фактическое расщепление на диплоидные (7 частей), тетраплоидные (14 частей) и триплоидные + анеуплоидные (18 частей), а при самоопылении триплоидных растений расщепление было 2 : 16 : 13 соответственно. Анализ плоидности зерновок, завязавшихся в результате самоопыления на триплоидном початке, показал, что 7,44% имеют диплоидный, 41,78% – триплоидный + анеуплоидный и 50,74% – тетраплоидный геном. В совокупности все эти факторы приводят к снижению фертильности и урожайности зерна тетраплоидной кукурузы до 50%.

Такое резкое снижение урожая зерна связано с нарушением формирования полноценного эндосперма в гетероплоидных скрещиваниях, который показывает, что при реципрокных скрещиваниях между диплоидной и тетраплоидной кукурузой на початках формируются 100-процентно триплоидные зерновки без эндосперма, фактически, без урожая зерна. При отсутствии в такой репродукции качественной калибровки по удалению примеси триплоидных зерновок происходит вторичное засорение семенного материала и посевов триплоидными растениями, приводящее к потере урожая зерна до 50% уже во второй репродукции семян.

Установлено, что отцовские гаметы триплоидных растений способны полноценно участвовать в процессе слияния гамет как с диплоидными, так и с гаплоидными яйцеклетками, создавая гомоплоидные и гетероплоидные гибридные геномы. Расчет доли генотипов зародыша и эндосперма, формирующихся при гибридизации между ♂гаметами 3n-кукурузы с генотипом *Su2Su2su2* и ♀гаметами 2n- и 4n-кукурузы, гомозиготных по сигнальным генам сахарного эндосперма зерновки *Su2* и *su2*, показал, что в  $F_2$ -репродукциях частота гибридных диплоидных в сумме с триплоидными + анеуплоидными зерновками в урожае зерна может составить 49,25%. При этом новые репродукции гибридных диплоидных зерновок, способны в следующем  $F_3$ -поколении сформировать очередные щуплые триплоидные зернов-

ки при их переопылении с тетраплоидной популяцией. Это будет способствовать дальнейшей деградации тетраплоидного генома и снижению урожая зерна.

При отсутствии условий пространственной изоляции между диплоидной и тетраплоидной кукурузой, а также отсутствии качественной калибровки семян после сбора урожая, с каждой новой репродукцией семян частоты гетероплоидных генотипов будут возрастать, увеличивая частоту генетического и геномного засорения, приводя к снижению урожая зерна и окончательному вырождению тетраплоидной популяции.

### References / Литература

- Hatefov E.B. Variability in ploidy grains at heteroploid crosses between diploid and tetraploid maize. *News of the Kabardin-Balkar scientific center of RAS*. 2012;3(47):86-90. [in Russian] (Хатефов Э.Б. Изменчивость плоидности зерновок при гетероплоидных скрещиваниях между диплоидной и тетраплоидной кукурузой. *Известия Кабардино-Балкарского научного центра РАН*. 2012;3(47):86-90.)
- Hatefov E.B., Shcherbak V.S., Role of polyploidy in breeding of agricultural crops. *Vladimirskiy zemledelets = Vladimir Farmer*. 2011;(2):15-16. [in Russian] (Хатефов Э.Б., Щербак В.С. Роль полиплоидии в селекции сельскохозяйственных культур. *Владимирский земледелец*. 2011;(2):15-16).
- Henry I.M., Dilkes B.P., Miller E.S., Burkart-Waco D., Comai L. Phenotypic consequences of aneuploidy in *Arabidopsis thaliana*. *Genetics*. 2010;186(4):1231-1245. DOI: 10.1534/genetics.110.121079
- Henry I.M., Dilkes B.P., Young K., Watson B., Wu H., Comai L. Aneuploidy and genetic variation in the *Arabidopsis thaliana* triploid response. *Genetics*. 2005;170(4):1979-1988. DOI: 10.1534/genetics.104.037788
- Khatefov EB, Kerv Yu.A., Boyko V.N., Golovina MA, Appaev S.P. Expansion of the genetic polymorphism of the initial selection material of corn by the method of re-diploidization of tetraploid populations. *Taurida Herald of the Agrarian Sciences*. 2018;4(16):192-203. [in Russian] (Хатефов Э.Б., Керв Ю.А., Бойко В.Н., Головина М.А., Аппаев С.П. Расширение генетического полиморфизма исходного селекционного материала кукурузы методом редиплоидизации тетраплоидных популяций. *Таврический вестник аграрной науки*. 2018;4(16):192-203). DOI: 10.25637/TVAN.2018.04.18
- Khatefov E.B., Malukhov Z.M. Preserving seed fruitfulness of tetraploid corn. *Vestnik of the Russian Agricultural Science*. 2013;(5):31-33. [in Russian] (Хатефов Э.Б., Малухов З.М. Сохранение семенной плодovitости тетраплоидной кукурузы. *Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук*. 2013;(5):31-33).
- Khatefov E.B., Matveeva G.V. Development of rediploid maize lines (methodological guidelines). St. Petersburg: VIR; 2018. [in Russian] (Хатефов Э.Б., Матвеева Г.В. Получение редиплоидных линий кукурузы. Методические указания. Санкт-Петербург: ВИР; 2018).
- Pausheva Z.P. Workshop on plant cytology (Praktikum po tsitologii rasteniy). 4th ed. Moscow: Agropromizdat; 1988. [in Russian] (Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. 4-е изд. Москва: Агрпромиздат; 1988).
- Rhoades M.M. Note on the origin of triploidy in maize. *Journal of Genetics*. 1936;33:355-357.
- Romeis B. Mikroskopische Technik (neubearbeitete und erweiterte Auflage, herausgegeben von P. BÖCK). München; Wien; Baltimore: Urban und Schwarzenberg; 1989. [in German]
- Shmaraev G.E., Matveeva G.V. Study and maintenance of the maize collection accessions. Guidelines (Izucheniye i podderzhaniye obraztsov kollektzii kukuruzy. Metodicheskiye ukazaniya). Leningrad: VIR; 1985. [in Russian] (Шмараев Г.Е., Матвеева Г.В. Изучение и поддержание образцов коллекции кукурузы. Методические указания. Ленинград: ВИР; 1985).
- Wang X., Cheng Z.M., Zhi S., Xu F. Breeding triploid plants: a review. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*. 2016;52(2):41-54. DOI: 10.17221/151/2015-CJGPB

### Информация об авторах

**Эдуард Балилович Хатефов**, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44, haed1967@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5713-2328>

**Александр Андреевич Грушин**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Волгоградская опытная станция – филиал ВИР, 404160 Россия, Волгоградская область, Среднеахтубинский район, Краснослободск, квартал Опытная станция ВИР, 30, gnuvosvniir@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2842-1512>

**Владислав Николаевич Бойко**, кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Кубанская опытная станция – филиал ВИР, 352183 Россия, Краснодарский край, Гулькевичский район, поселок Ботаника, ул. Центральная, 2, boyko\_vlad@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7919-1302>

### Information about the authors

**Eduard B. Khatefov**, Dr. Sci. (Biology), Leading Researcher, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia, haed1967@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5713-2328>

**Aleksander A. Grushin**, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, Volgograd Experiment Station of VIR, 30 VIR Exp. Station Block, Krasnoslobodsk, Volgograd Province 404160, Russia, gnuvosvniir@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2842-1512>

**Vladislav N. Boyko**, Cand. Sci. (Agriculture), Senior Researcher, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, Kuban Experimental Station of VIR, 2 Tsentralnaya St., Botanika, Gulkevichi District, Krasnodar Territory 352183, Russia, boyko\_vlad@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7919-1302>

**Вклад авторов:** Хатефов Э.Б. – разработка теории; проведение скрещиваний; интерпретация результатов. Бойко В.Н., Грушин А.А. – подбор и размножение материала; проведение полевых испытаний; сбор статистических данных.

**Contribution of the authors:** Khatefov E.B. – development of the theory; performance of crossings; interpretation of the results. Boyko V.N., Grushin A.A. – selection and multiplication of the material; performance of field tests; collection of statistical data.

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interests:** the authors declare no conflicts of interests.

Статья поступила в редакцию 05.11.2019; одобрена после рецензирования 19.04.2020; принята к публикации 28.02.2022.

The article was submitted on 05.11.2019; approved after reviewing on 19.04.2020; accepted for publication on 28.02.2022.