

# Изучение потенциальной зимостойкости сортообразцов и генотипов озимой мягкой пшеницы с помощью анализа автофлуоресценции тканей проростков

DOI: 10.30901/2227-8834-2021-1-33-40

УДК 633.111.1: 57.045

Поступление/Received: 15.03.2020

Принято/Accepted: 01.03.2021

И. В. КАРХАРДИН<sup>1</sup>, А. А. КОНОВАЛОВ<sup>2\*</sup>,  
Н. П. ГОНЧАРОВ<sup>1, 2</sup><sup>1</sup> Новосибирский государственный аграрный университет,  
630039 Россия, г. Новосибирск, ул. Добролюбова, 160<sup>2</sup> Федеральный исследовательский центр

Институт цитологии и генетики

Сибирского отделения РАН,

630090 Россия, г. Новосибирск,

пр. Академика Лаврентьева, 10

\*  [konov@bionet.nsc.ru](mailto:konov@bionet.nsc.ru)

**Assessment of potential winter hardiness in winter bread wheat cultivars and genotypes by analyzing autofluorescence in seedling tissues**

I. V. KARKHARDIN<sup>1</sup>, A. A. KONOVALOV<sup>2</sup>,  
N. P. GONCHAROV<sup>1, 2</sup><sup>1</sup> Novosibirsk State Agrarian University,  
160 Dobrolyubova St.,  
Novosibirsk 630039, Russia<sup>2</sup> Institute of Cytology and Genetics,  
Siberian Branch of the RAS,  
10 Lavrentyeva Ave.,  
Novosibirsk 630090, Russia\*  [konov@bionet.nsc.ru](mailto:konov@bionet.nsc.ru)

**Актуальность.** Озимые посевы зерновых культур являются наиболее продуктивным компонентом агроценозов. В РФ наибольшие потери озимой пшеницы происходят в зимний период, поэтому поиск признаков, маркирующих высокую/низкую зимостойкость озимых генотипов растений, в том числе селекционных образцов, необходим для оценки их потенциальной зимостойкости. Одним из таких признаков, маркирующих высокую зимостойкость, является повышенное содержание лигнина в тканях растений. Терминальным ферментом фенилпропановидного пути метаболизма, в котором образуются компоненты лигнина, является дегидрогеназа коричневого спирта – CAD (cinnamyl-alcohol dehydrogenase, EC 1.1.1.195). Фермент CAD является одним из ферментов ароматического метаболизма растений, приводящего к формированию, кроме лигнина, ряда других ароматических веществ – лигнанов, ароматических гликозидов и т. д. Многие из этих веществ, как и лигнин, имеют хромофорные группы и способны к автофлуоресценции.

**Материалы и методы.** В качестве объекта исследования использовали сорта озимой мягкой пшеницы 'Zitnica' (Югославия) и 'Новосибирская 9' (ИЦиГ СО РАН, Россия), контрастные по зимостойкости и по изоферментным спектрам CAD, их гибриды и 28 озимых сортов краснодарской селекции. Также проведен анализ флуоресценции 28 сортов озимой пшеницы. По результатам анализа семи наиболее контрастных сортов вычислены коэффициенты корреляции между флуоресценцией и устойчивостью к промораживанию.

**Заключение.** Показана связь генотипов озимой мягкой пшеницы по CAD1-F с успешной перезимовкой: обнаружена корреляция генотипов с аллелем 00 CAD1-F с более высоким процентом перезимовавших растений. Анализ флуоресценции срезов проростков также может быть использован для предварительной оценки селекционных образцов по зимостойкости. Это, несомненно, может упростить трудоемкий анализ определения зимостойкости в лабораторных исследованиях.

**Ключевые слова:** *Triticum aestivum*, конфокальная микроскопия, CAD (дегидрогеназа коричневого спирта).

**Background.** Winter crops are the most productive component of agricultural biocenoses. In Russia, winter wheat suffers the greatest losses in winter, so a search for traits marking high or low winter hardiness in autumn-sown genotypes, including improved cultivars, is needed to assess their potential for overwintering. One of such markers of high winter hardiness is an increased lignin content in plant tissues. The terminal enzyme in the phenylpropanoid pathway of metabolism, wherein lignin components are formed, is cinnamyl-alcohol dehydrogenase (CAD, EC 1.1.1.195). In plants, the CAD enzyme is one of the links in the aromatic metabolism, which generates, in addition to lignin, a number of aromatic compounds, such as lignans, aromatic glycosides, etc. Many of these compounds, like lignin, contain chromophore groups and are capable of autofluorescence. Correlations of the genotypes that incorporate CAD1-F with overwintering are studied in this work.

**Materials and methods.** The winter bread wheat cultivars 'Zitnica' (Yugoslavia) and 'Novosibirskaya 9' (ICG SB RAS, Russia), contrasting in winter hardiness and CAD isozyme spectra, their hybrids, and 28 improved winter cultivars developed in Krasnodar were selected for the study. Fluorescence analysis of 28 winter wheat cultivars was also performed. Correlation coefficients between fluorescence and frost tolerance were calculated using the results of the analysis of 7 most contrasting cultivars.

**Conclusions.** The tested winter bread wheat genotypes demonstrated the interplay between CAD1-F and successful overwintering: a correlation was found in the genotypes carrying the 00 CAD1-F allele with higher percentage of overwintered plants. This dependence was not observed in every season. The analysis of seedling sections for fluorescence can also be used for preliminary assessment of winter tolerance in winter bread wheat under laboratory conditions.

**Key words:** *Triticum aestivum*, confocal microscopy, CAD (cinnamyl-alcohol dehydrogenase).

## Введение

Одной из причин гибели растений озимой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) в Сибирском регионе РФ является использование в сельскохозяйственном производстве сортов, не обладающих достаточно выраженной зимостойкостью и характеризующихся низкой морозоустойчивостью, в сочетании с неустойчивостью или полным отсутствием на полях снежного покрова. В результате ранее проведенных исследований накоплен обширный материал по вопросам культивирования озимой пшеницы, который отражает агроэкологические, метеорологические, селекционные и другие аспекты (Gubanov, Ivanov, 1988). Однако не до конца исследован круг признаков растений пшеницы, способствующих их успешной перезимовке. Кроме того, актуальным является вопрос об эффективных и низкокостратных (желательно лабораторных) методах оценки потенциальной зимостойкости озимых растений.

Повышенное содержание лигнина, как известно, увеличивает устойчивость некоторых видов озимых растений к низким температурам (Ryadnova, 1957; Kantser, 1972). Лигнин образуется в шикиматном (или фенилпропаноидном) пути метаболизма – одном из двух основных путей синтеза ароматических соединений у растений (Goodwin, Mercer, 1983a, b). Было установлено, что и другие продукты фенилпропаноидного пути, такие как лигнаны, олиго- и мономерные фенольные метаболиты (как правило, в виде гликозидов), обладают многообразным физиологическим действием, в том числе защитным (Zargometov, 1993).

Известно, что фенилпропаноидный путь метаболизма активируется холодом у самых разных видов растений, однако результаты такой активации могут быть двоякими. Во-первых, усиление при его активации процесса лигнификации клеточных стенок, то есть увеличение их механической прочности, что повышает сопротивляемость клеток разрушению при замерзании (Wei et al., 2006). Во-вторых, возможно, накопление моно- и олигомерных продуктов фенилпропаноидного пути (скорее всего, в виде гликозидов) понижает температуру замерзания клеточного сока и цитоплазмы клеток, предотвращая образование в них кристаллов льда за счет увеличения степени гелификации.

Вероятные механизмы активации экспрессии соответствующих генов и защитного действия фенольных метаболитов рассмотрены в ряде обзоров (Mouga et al., 2010; Le Gall et al., 2015).

Полиморфизм по генам ферментов, задействованным в фенилпропаноидном пути, оказывает также влияние на конечные продукты и на многие признаки, связанные с ростом и развитием растений (Konvalov et al., 2015). Чаще всего исследователи обнаруживают функциональный полиморфизм по начальному ферменту фенилпропаноидного пути PAL (фенилаланин-аммиак-лиаза, phenylalanine ammonia-lyase, EC 4.3.1.24) и терминальному ферменту этого пути CAD (дегидрогеназа коричного спирта, cinnamyl-alcohol dehydrogenase, EC 1.1.1.195). Фермент CAD является одним из ключевых ферментов ароматического метаболизма растений, приводящего к формированию ряда ароматических веществ – лигнина, лигнанов, ароматических гликозидов и т. д. Многие из этих веществ имеют хромофорные группы и способны к автофлуоресценции.

Гены устойчивости к морозу, как и CAD, локализованы в хромосомах 5-й гомологической группы мягкой

пшеницы (Toth et al., 2003) и ржи (*Secale cereale* L.) (Erath et al., 2017). Ранее нами были получены растения озимой пшеницы с различными генотипами по гену *CAD1-F*. У этих генотипов были изучены зимостойкость и флуоресценция тканей проростков с целью установления связи между этими признаками (Konvalov et al., 2016). Ранее было показано, что в листьях ячменя экспрессия генов синтеза лигнина, включая CAD, повышалась под воздействием холода (Janská et al., 2011). Авторы предположили, что монолигнолы, а не лигнин, синтезировались в листе, так как гены пероксидазы, вовлеченные в синтез лигнина из монолигнолов, понижали экспрессию.

При закаливании растений озимой пшеницы сорта 'Мионовская 808' увеличивалось содержание растворимых фенольных соединений в листьях ювенильных растений на стадии 5–7 листьев; при этом содержание лигнина не менялось (Olenichenko, Zagoskina, 2005). Однако в узлах кущения наблюдалось противоположное: содержание растворимых фенольных соединений немного уменьшалось, содержание лигнина увеличивалось более чем в два раза. При этом активность фенилаланинаммиалазы (ФАЛ) в обеих тканях уменьшалась и соответственно увеличилось содержание свободного L-фенилаланина. Из этих данных видно, что динамика фенилпропаноидных метаболитов, как свободных, так и полимерных, задействована в процессе закаливания озимых генотипов, и эти процессы не обязательно сопровождаются увеличением активности ФАЛ (Olenichenko, Zagoskina, 2005). В узлах кущения и в листьях эти процессы могут иметь разнонаправленный характер.

*Цель данного исследования* – изучить и выделить образцы озимой мягкой пшеницы, обладающие высокой морозоустойчивостью, с использованием изоферментного анализа и метода автофлуоресценции.

Для ее достижения поставлены следующие задачи:

- определить уровень морозостойкости образцов озимой пшеницы с использованием изоферментного анализа и методом автофлуоресценции;
- оценить возможность использования данных методов оценки селекционного материала по морозостойкости озимой пшеницы.

## Материалы и методы

В качестве объекта исследования использовали сорта озимой мягкой пшеницы: 'Zitnica' (к-59716, бывш. Югославия), полученный из коллекции ВИР, и 'Новосибирская 9', полученный от оригинатора сорта В. А. Козлова (ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск), контрастные по зимостойкости и по изоферментным спектрам CAD. После скрещивания растения  $F_1$  и  $F_2$  гибридов выращивали в вегетационных сосудах после яровизации в течение двух месяцев. Потомства  $F_3$ -гибридов, гомозиготные по аллельным вариантам CAD (FF и 00), использовали для подзимних посевов. Одиннадцать потомств FF и 11 потомств 00 высевали под зиму в течение трех лет в 2013–2015 гг. Зимостойкость оценивали по числу перезимовавших растений от числа посеянных семян.

Кроме этого, использовали 28 озимых образцов, полученных из Национального центра зерна имени П.П. Лукьяненко (НЦЗ им. П.П. Лукьяненко, г. Краснодар), морозоустойчивость которых предварительно определялась промораживанием при  $-18^{\circ}\text{C}$  и  $-19,5^{\circ}\text{C}$  и подсчетом выживших растений по стандартной методике (Kirichenko, 1969; Ivanisov, Ionova, 2016). Сортообразцы и информация об их морозоустойчивости были любезно предо-

ставлены академиком РАН Л. А. Беспаловой (НЦЗ имени П.П. Лукьяненко, г. Краснодар).

Растения выращивали по пару на полях Селекционно-генетического центра ИЦиГ СО РАН, 54°51'08" северной широты, 83°06'21" восточной долготы, высота над уровнем моря 151 м. Почвы – выщелоченный чернозем.

Изоферментный спектр CAD1 определяли с помощью электрофореза в крахмальном геле (Kogochkin et al., 1977). Флуоресценцию тканей оценивали на срезах свежих тканей толщиной 30 мкм, полученных на замораживающем микротоме Microm HM-505N (Microm, Германия) и просматривали на микроскопе Axio Imager Z1 Центра коллективного пользования микроскопического анализа биологических объектов СО РАН (г. Новосибирск).

В Химцентре СО РАН (Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН) была проведена экстракция метаболитов из узла кущения (фраг-

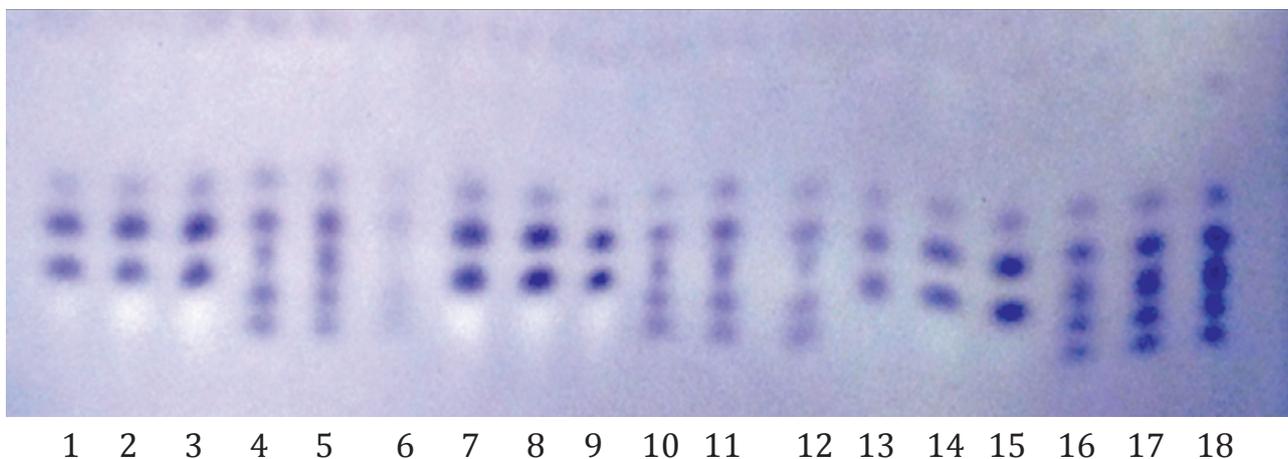
менты размером 5 мм), полученные экстракты изучены спектроскопическими и хроматографическими методами (Kagrova et al., 2019).

Математическую обработку проводили с использованием программы Microsoft Excel 2010.

### Результаты и обсуждение

Методом электрофореза в крахмальном геле у сортов озимой мягкой пшеницы были обнаружены различия в спектрах изоферментов ароматической алкогольдегидрогеназы, НАДФ-ААДГ или CAD1 (cinnamyl-alcohol dehydrogenase, дегидрогеназа коричневого спирта; EC 1.1.1.195) (рис. 1).

Данные изучения выживаемости различных генотипов по данному изоферменту при озимом посеве представлены в таблице 1. Видим, что генотипы FF перезимовывали в среднем лучше, чем генотипы 00.



**Рис. 1.** Типы изоферментных спектров CAD у озимых сортов мягкой пшеницы:

треки 1–3, 7–9, 13–15 – неморозоустойчивый сорт 'Zitnica';  
4–6, 10–12, 16–18 – морозоустойчивый сорт 'Новосибирская 9'

**Fig. 1.** Types of CAD spectra in winter wheat cultivars:

tracks 1–3, 7–9, 13–15 – non-frost-resistant cv. 'Zitnica'; 4–6, 10–12, 16–18 – frost-resistant cv. 'Novosibirskaya 9'

**Таблица 1.** Выживаемость растений озимой пшеницы генотипов FF и 00 после перезимовки в сезонах 2013/2014, 2014/2015 и 2015/2016 гг.

**Table 1.** Winter survival rate for the FF and 00 genotypes of winter wheat in the seasons of 2013/2014, 2014/2015 and 2015/2016

Сезон, г.	Генотип озимого растения пшеницы по CAD		Критерий Пирсона, $\chi^2$
	FF	00	
2013/2014	880/552 (62,7%)*	880/369 (41,9%)	$\chi^2 = 24,01$ P > 0,99
2014/2015	2310/1365 (59,1%)	2310/1149 (49,7%)	$\chi^2 = 12,00$ P > 0,99
2015/2016	2694/1652 (61,3%)	2436/1440 (59,1%)	$\chi^2 = 0,64$ P < 0,10
всего	5884/3569 (60,7%)	5626/2958 (52,6%)	$\chi^2 = 21,08$ P > 0,99

\* – в скобках – процент перезимовавших растений

\* – percentage of overwintered plants (in parentheses)

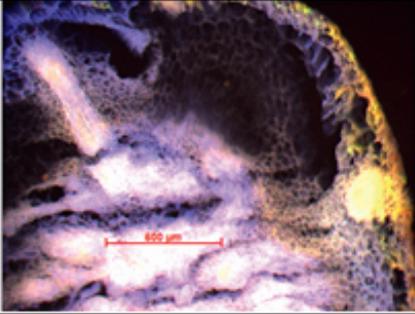
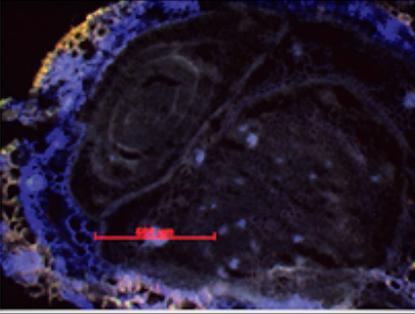
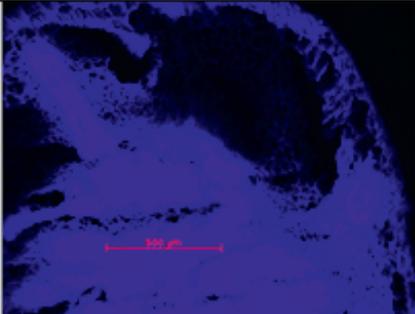
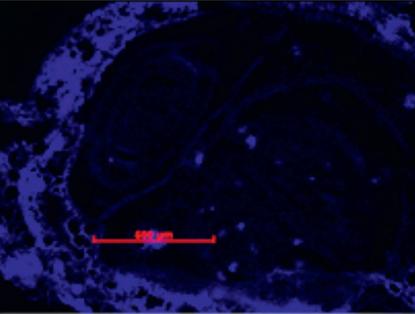
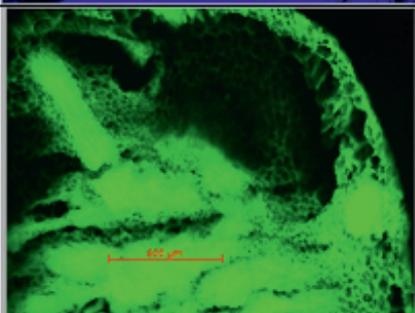
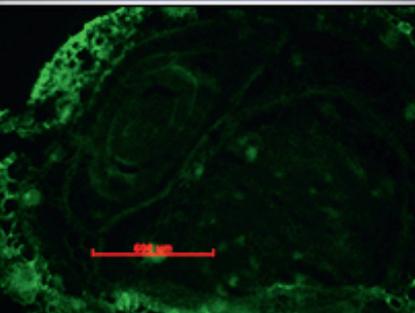
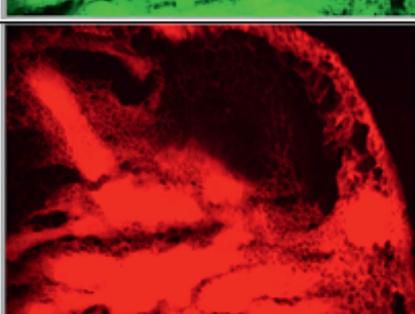
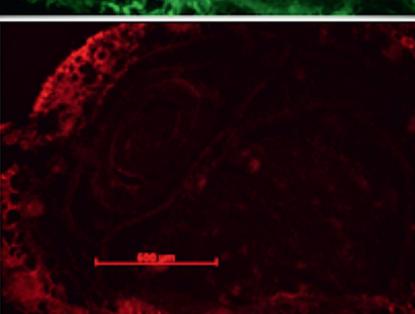
Каждой весной перезимовавшие проростки брали с поля для изучения. У живых растений вырезали узел кущения, помещали в замораживающий микротом, затем срезы узлов кущения просматривали под флуоресцентным микроскопом (рис. 2). Ткани проростков генотипа FF флуоресцировали значительно сильнее, чем ткани проростков генотипа 00.

При следующем этапе работы в Химцентре СО РАН (НИОХ, г. Новосибирск) была проведена экстракция метаболитов из узла кущения (фрагменты размером 5 мм). В последующем экстракты были изучены спектроскопи-

ческими и хроматографическими методами. Были обнаружены различия по содержанию ряда метаболитов (рис. 3), которые в дальнейшем будут идентифицироваться.

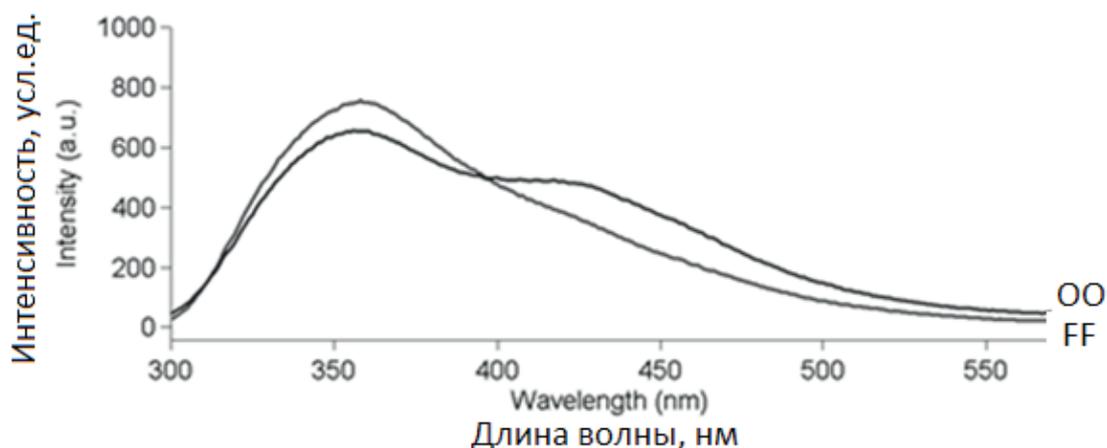
Флуоресцентные методы исследования не позволяют идентифицировать конкретный метаболит, но дают общую картину содержания и локализации флуоресцирующих веществ в тканях и широко используются при изучении микроморфологии растений (рис. 4).

Ароматические гликозиды способствуют гелификации клеточного сока и замерзанию воды в аморфном со-

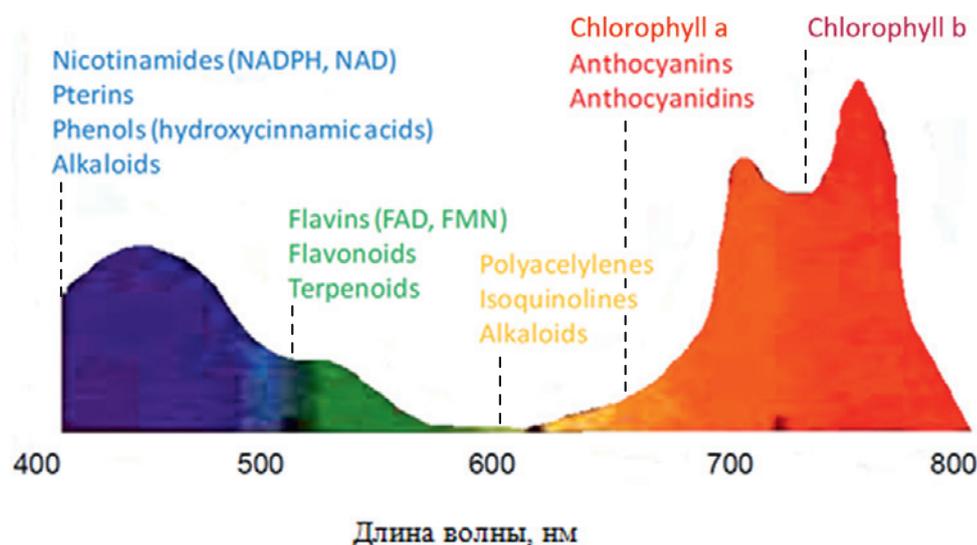
Образец с более высокой зимостойкостью, генотип FF	Образец с более низкой зимостойкостью, генотип 00	Длина волны возбуждающего излучения
		Общий спектр
		365 нм
		470 нм
		546 нм

**Рис. 2.** Автофлуоресценция срезов узла кущения у проростков озимой мягкой пшеницы подзимнего посева, 2013/2014 г. (линейка 600 мкм)

**Fig. 2.** Autofluorescence of tillering node sections in seedlings of winter bread wheat sown in late autumn, 2013/2014 (600 μm scale bar)



**Рис. 3.** Спектр флуоресценции водных экстрактов узлов кущения озимой пшеницы  
**Fig. 3.** A graph showing fluorescence of aqueous extracts from tillering nodes of winter wheat



**Рис. 4.** Автофлуоресценция экстракта из типичного зеленого листа при возбуждении 355 нм  
 (по: P. Talamond et al., 2015)

**Fig. 4.** Autofluorescence of the extract from a typical green leaf when excited at 355 nm  
 (from: P. Talamond et al., 2015)

стоянии, без образования кристаллов льда, которые являются основным повреждающим фактором клеток растений в зимний период (Cheynier et al., 2013).

В таблице 2 представлены результаты суммарной автофлуоресценции, полученные при трех значениях возбуждающего излучения, на срезах проростков 28 сортов краснодарской селекции с определенной по стандартной методике морозоустойчивостью. При анализе результатов автофлюорографии срезов растений озимых сортов краснодарской селекции первого срока посева все корреляции были положительными. Максимальное значение 0,48 свидетельствует о корреляции средней степени. У более старших проростков (14- и 21-суточных) значения коэффициентов корреляции в данной выборке значительно снижаются. На основании полученных результатов можно делать вывод о возможности оценки образцов по потенциальной морозоустойчивости на ранних этапах онтогенеза.

Для более детального дальнейшего анализа была взята выборка из проростков семи наиболее контраст-

ных по морозоустойчивости озимых сортов, а именно: наиболее устойчивые 'Зимница', 'Творец', 'Гром', 'Москвич'; наименее устойчивые 'Утриш', 'Ваня', 'Караван'. Были получены более контрастные результаты (табл. 3). В этом случае можно было выделить группу наиболее морозостойких растений не только при анализе 7-суточных проростков, но и на более поздних стадиях их развития. Корреляции были средней силы (0,4–0,5) и выше. Это позволит в дальнейшем использовать их как дополнительные показатели потенциальной зимостойкости у изучаемого материала.

Подчеркнем, что оценка потенциальной морозоустойчивости методом автофлуоресценции проводится в лабораторных условиях, используются двух-, четырехнедельные проростки. Это позволяет ускорить процесс отбора, так как при стандартных методах отбор образцов проводят на более поздних фазах развития растений. У проростков готовят срезы узла кущения и оценивают потенциальную зимостойкость по интенсивности флуоресценции тканей, измеренной на флуоресцентном мик-

**Таблица 2.** Значения коэффициентов корреляции между морозостойкостью 28 сортов озимой пшеницы и автофлуоресценцией срезов проростков, выдержанных в холодильнике**Table 2.** Correlations between frost resistance in 28 winter wheat cultivars and autofluorescence of seedling sections kept in a refrigerator

Температура промораживания	Возраст проростков								
	7 суток			14 суток			21 сутки		
	365*	470*	546*	365*	470*	546*	365*	470*	546*
-18°C	0,30	0,28	0,08	0,00	0,24	0,18	0,19	0,05	0,28
-19,5°C	0,31	0,48	0,29	0,17	0,17	0,12	0,02	0,05	0,22

\* – возбуждающее излучение (нм)

\* – excitatory radiation (nm)

**Таблица 3.** Корреляции между морозостойкостью и автофлуоресценцией срезов проростков у семи наиболее контрастных по данному признаку сортов озимой пшеницы при возбуждающем излучении (365, 470 и 546 нм)**Table 3.** Correlations between frost resistance and autofluorescence in seedlings of seven most contrasting winter wheat cultivars under excitatory radiation (365, 470 and 546 nm)

Температура промораживания	Возраст проростков								
	7 суток			14 суток			21 сутки		
	365*	470*	546*	365*	470*	546*	365*	470*	546*
-18°C	0,27	0,42	0,10	0,81	0,23	0,07	0,01	0,05	0,51
-19,5°C	0,12	0,48	0,01	0,80	0,30	0,09	0,03	0,01	0,49

Примечание: морозостойкость семи сортов при -18°C: 'Зимница' (93%), 'Творец' (95%), 'Гром' (92%), 'Москвич' (93%), 'Утриш' (37%), 'Ваня' (34%) и 'Караван' (5%); при -19,5°C: 74%, 86%, 61%, 78%, 19%, 12% и 0% соответственно

Note: frost resistance of seven cultivars at -18°C: 'Zimnica' (93%), 'Tvorets' (95%), 'Grom' (92%), 'Moskvich' (93%), 'Utrish' (37%), 'Vanya' (34%) and 'Karavan' (5%); at -19.5°C: 74%, 86%, 61%, 78%, 19%, 12% and 0%, respectively

роскопе при длине волн 365, 470 и 546 нм. При этом в качестве потенциально зимостойких отбирают образцы с повышенной флуоресценцией, что позволяет значительно упростить и ускорить процесс селекции на морозостойкость за счет сокращения времени получения оценки, значительного уменьшения трудоемкости анализов и сокращения объемов анализируемых выборок растений.

### Заключение

Из полученных результатов следует, что растения озимой мягкой пшеницы с разными типами изоферментных спектров CAD1 (cinnamyl-alcohol dehydrogenase, EC 1.1.1.195) различаются по проценту перезимовавших растений, при этом растения с генотипом FF перезимовывают значительно лучше, чем с генотипом 00. Сделано предположение о том, что полиморфизм по ферменту CAD влияет на содержание флуоресцирующих метаболитов в узлах кущения озимых растений, что в свою очередь увеличивает их зимостойкость.

Генотипы с более высокой зимостойкостью имеют более интенсивную автофлуоресценцию тканей у проростков на срезах узла кущения после холодной предобработки.

Данный метод можно использовать для оценки селекционируемого материала с повышенной потенциальной зимостойкостью на ранних этапах его селекционной проработки.

Работа поддержана бюджетным проектом № 0259-2021-0012.

Авторы благодарят С. И. Байбородина (ИЦИГ СО РАН), И. К. Шундрину и Е. В. Карпову (НПОХ СО РАН) за помощь при проведении исследований и академика РАН Л. А. Беспалову (НЦЗ им. П.П. Лукьяненко, г. Краснодар) за предоставление сортов озимой мягкой пшеницы и информации о морозостойкости пшениц краснодарской селекции.

The research was supported by Budgetary Project No. 0259-2021-0012.

The authors are grateful to S. I. Bayborodin (Institute of Cytology and Genetics, SB RAS), I. K. Shundrina and E. V. Karpova (Novosibirsk Institute of Organic Chemistry, SB RAS) for their assistance in the research, and to Acad. L. A. Bespalova (P.P. Lukyanenko National Grain Center, Krasnodar) for making available winter bread wheat cultivars and information about their frost tolerance.

## References / Литература

- Cheyrier V., Comte G., Davies K.M., Lattanzio V., Martens S. Plant phenolics: recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2013;72:1-20. DOI: 10.1016/j.plaphy.2013.05.009
- Goodwin T.W., Mercer E.I. Introduction to Plant Biochemistry. Vol. 1. 2nd ed. Oxford: Pergamon Press; 1983a.
- Goodwin T.W., Mercer E.I. Introduction to Plant Biochemistry. Vol. 2. 2nd ed. Oxford: Pergamon Press; 1983b.
- Gubanov Y.V., Ivanov N.N. Winter wheat (Ozimaya pshenitsa). Moscow: Agropromizdat; 1988. [in Russian] (Губанов Я.В., Иванов Н.Н. Озимая пшеница. Москва: Агропромиздат; 1988).
- Erath W., Bauer E., Fowler D.B., Gordillo A., Korzun V., Ponomareva M. et al. Exploring new alleles for frost tolerance in winter rye. *Theoretical and Applied Genetics*. 2017;130(10):2151-2164. DOI: 10.1007/s00122-017-2948-7
- Ivanisov M.M., Ionova E.V. Frost tolerance of the varieties and lines of soft winter wheat. *International Research Journal*. 2016;9(51) (Pt 3):110-113. [in Russian] (Иванисов М.М., Ионова Е.В. Морозостойкость сортов и линий озимой мягкой пшеницы. *Международный научно-исследовательский журнал*. 2016;9(51) (ч. 3):110-113). DOI: 10.18454/IRJ.2016.51.115
- Janská A., Aprile A., Zámečník J., Cattivelli L., Ovesná J. Transcriptional responses of winter barley to cold indicate nucleosome remodeling as a specific feature of crown tissues. *Functional and Integrative Genomics*. 2011;11(2):307-325. DOI: 10.1007/s10142-011-0213-8
- Kantser A.N. Dynamics of lignin content and frost resistance in woody plants (Dinamika soderzhaniya lignina i morozostoykost drevesnykh rasteniy). *Fiziologiya i biokhimiya kulturnykh rasteniy = Physiology and Biochemistry of Cultivated Plants*. 1972;4(1):92-95. [in Russian] (Канцер А.Н. Динамика содержания лигнина и морозостойкость древесных растений. *Физиология и биохимия культурных растений*. 1972;4(1):92-95).
- Karpova Ye.V., Shundrina I.K., Orlova Ye.A., Konovalov A.A. Aromatic and mineral substances in the tissues of the samples of spring common wheat *Triticum aestivum* L., differing in resistance to brown rust (pathogen *Puccinia triticina* Erikss.). *Chemistry of Plant Raw Materials*. 2019;4(4):87-95. [in Russian] (Карпова Е.В., Шундрин И.К., Орлова Е.А., Коновалов А.А. Ароматические и минеральные вещества в тканях образцов яровой мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L., различающихся по устойчивости к бурой ржавчине (возбудитель *Puccinia triticina* Erikss.). *Химия растительного сырья*. 2019;4(4):87-95). DOI: 10.14258/jcprm.2019045238
- Kirichenko F.G. Detection of frost resistance in winter crops by the method of direct freezing in sowing boxes (Opredeleniye morozostoykosti ozimyykh kultur metodom pryamogo promorazhivaniya v posevnykh yashchikakh). In: *Methods for Determining Frost Tolerance and Winter Hardiness in Winter Crops (Metody opredeleniya morozostoykosti ozimyykh kultur)*. Moscow; 1969. p.3-8. [in Russian] (Кириченко Ф.Г. Определение морозостойкости озимых культур методом прямого промораживания в посевных ящиках. В кн.: *Методы определения морозо- и зимостойкости озимых культур*. Москва; 1969. С.3-8).
- Konovalov A.A., Shundrina I.K., Karpova E.V. Polymorphism of lignification enzymes in plants: Functional importance and applied aspects. *Biology Bulletin Reviews*. 2016;6(2):149-163. DOI: 10.1134/S2079086416020031
- Konovalov A.A., Shundrina I.K., Karpova E.V., Goncharov N.P., Kondratenko E.Ya. Chromosomal localization of aromatic alcohol dehydrogenase fast-migrating isoenzyme *Aadh1F* (*CAD1F*) gene in *Triticum aestivum* L. bread wheat. *Russian Journal of Genetics*. 2016;52(10):1110-1116. DOI: 10.1134/S1022795416080056
- Korochkin L.I., Serov O.L., Pudovkin A.I., Aronshtam A.A., Borkin L.Ya. Genetics of isoenzymes (Genetika izofermentov). D.K. Belyaev (ed.). Moscow: Nauka; 1977. [in Russian] (Корочкин Л.И., Серов О.Л., Пудовкин А.И., Аронштам А.А., Боркин Л.Я. Генетика изоферментов / под ред. Д.К. Беляева. Москва: Наука; 1977).
- Le Gall H., Philippe F., Domon J.M., Gillet F., Pelloux J., Rayon C. Cell wall metabolism in response to abiotic stress. *Plants*. 2015;4(1):112-166. DOI: 10.3390/plants4010112
- Moura J.C.M.S.M., Bonine C.A.V., de Oliveira Fernandes Viana J., Dornelas M.C., Mazzafera P. Abiotic and biotic stresses and changes in the lignin content and composition in plants. *Journal of Integrative Plant Biology*. 2010;52(4):360-376. DOI: 10.1111/j.1744-7909.2010.00892.x
- Olenichenko N.A., Zagoskina N.V. Response of winter wheat to cold: production of phenolic compounds and L-phenylalanine ammonia lyase activity. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2005;41(6):600-603. DOI: 10.1007/s10438-005-0109-2
- Ryadnova I.M. Lignification of shoots in fruit trees and their frost resistance (Odrevesneniye pobegov plodovykh derevyev i ikh morozostoykost). *Russian Journal of Plant Physiology*. 1957;4(2):134-137. [in Russian] (Ряднова И.М. Одревеснение побегов плодовых деревьев и их морозостойчивость. *Физиология растений*. 1957;4(2):134-137).
- Talamond P., Verdeil J.L., Conéjéro G. Secondary metabolite localization by autofluorescence in living plant cells. *Molecules*. 2015;20(3):5024-5037. DOI: 10.3390/molecules20035024
- Toth I.K., Bell K.S., Holeva M.C., Birch P.R.J. Soft rot erwiniae: from genes to genomes. *Molecular Plant Pathology*. 2003;4(1):17-30. DOI: 10.1046/j.1364-3703.2003.00149.x.20569359
- Wei H., Dhanaraj A.L., Arora R., Rowland L.J., Fu Y., Sun L. Identification of cold acclimation-responsive *Rhododendron* genes for lipid metabolism, membrane transport and lignin biosynthesis: importance of moderately abundant ESTs in genomic studies. *Plant, Cell and Environment*. 2006;29(4):558-570. DOI: 10.1111/j.1365-3040.2005.01432.x
- Zaprometov M.N. Phenolic compounds: distribution, metabolism and functions in plants (Fenolnye soedineniya: rasprostraneniye, metabolizm i funktsii v rasteniyakh). Moscow: Nauka; 1993. [in Russian] (Запрометов М.Н. Фенольные соединения: распространение, метаболизм и функции в растениях. Москва: Наука; 1993).

**Прозрачность финансовой деятельности / The transparency of financial activities**

Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

The authors declare the absence of any financial interest in the materials or methods presented.

**Для цитирования / How to cite this article**

Кархардин И.В., Коновалов А.А., Гончаров Н.П. Изучение потенциальной зимостойкости сортообразцов и генотипов озимой мягкой пшеницы с помощью анализа автофлуоресценции тканей проростков. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2021;182(1):33-40. DOI: 10.30901/2227-8834-2021-1-33-40

Karkhardin I.V., Konovalov A.A., Goncharov N.P. Assessment of potential winter hardiness in winter bread wheat cultivars and genotypes by analyzing autofluorescence in seedling tissues. Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding. 2021;182(1):33-40. DOI: 10.30901/2227-8834-2021-1-33-40

**Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы / The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work**

**Дополнительная информация / Additional information**

Полные данные этой статьи доступны / Extended data is available for this paper at <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2021-1-33-40>

**Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы / The journal's opinion is neutral to the presented materials, the authors, and their employer**

**Авторы одобрили рукопись / The authors approved the manuscript**

**Конфликт интересов отсутствует / No conflict of interest**