

Генетическая изменчивость

УДК 633.111.1:575.224.46.044

doi: 10.15389/agrobiology.2024.1.92rus

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОТЕНЦИАЛА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ
Triticum aestivum L., ИНДУЦИРОВАННОЙ С ПОМОЩЬЮ
ХИМИЧЕСКОГО МУТАГЕНА ФОСФЕМИДА*Н.А. БОМЕ¹ ✉, С. САЛЕХ¹, М.У. УТЕБАЕВ², К.П. КОРОЛЕВ¹,
Л.И. ВАЙСФЕЛЬД³

Климатические изменения и растущий спрос на продукты питания делают необходимым поиск эффективных методов улучшения сельскохозяйственных растений. Из имеющихся селекционно-генетических инструментов, позволяющих создавать исходный материал с хозяйственно ценными признаками, перспективно применение индуцированного (искусственного) мутагенеза. В настоящей работе впервые установлен биологический потенциал химического мутагена фосфемиды на яровой мягкой пшенице. Выявлено, что обработка семян водным раствором мутагена в оптимальных концентрациях эффективна для увеличения генетической изменчивости и отбора селекционно ценных форм. Нашей целью было увеличение генетического разнообразия яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) с использованием химического мутагена фосфемиды, а также определение биологического потенциала мутантных образцов (M₅, M₆) по изменчивости различных категорий признаков в условиях Северного Зауралья. В качестве объектов исследования использовали 29 образцов яровой мягкой пшеницы, отобранных из мутантных популяций двух сортов Сага и Скэнт 3, гибрида (Сага × Скэнт 3), а также три контрольных сорта — Тюменская 25, Тюменская 29, Новосибирская 31. Мутантные образцы были получены с помощью химического мутагена фосфемиды после обработки семян водным раствором в концентрациях 0,002 и 0,01 % в течение 3 ч. Идентификацию мутаций и проверку их стабильности провели во втором (M₂) и третьем (M₃) поколениях. В статье приведены результаты исследования мутантов пятого (M₅) и шестого (M₆) поколений в контрастных метеорологических условиях вегетационных периодов 2021-2022 годов. Посев, наблюдения, учеты, описание морфологических признаков и биологических свойств растений проводили на экспериментальном участке биостанции Тюменского государственного университета «Озеро Кучак» (Тюменская обл., Нижнетавдинский р-н). Электрофорез глиадинов был выполнен на зерновках урожая 2021 года (M₅). На основе электрофоретического анализа зерна исходных и мутантных образцов составлены генетические формулы глиадина, определена частота аллелей глиадинкодирующих локусов (*Gli*) и показано, что применение химического мутагена фосфемиды позволяет увеличить генетическое разнообразие яровой мягкой пшеницы. В полевых испытаниях выявлены значительные различия между генотипами по ряду количественных признаков (высота растений, линейные размеры и площадь флагового листа, число продуктивных колосьев на 1 м², длина колоса, число и масса зерен в колосе). Основываясь на результатах корреляционного анализа, установлено, что сила связи между урожайностью и другими признаками зависит от метеорологических условий сезона вегетации. Под воздействием водного и теплового стресса увеличивалась зависимость зерновой продуктивности от числа растений ($r = 0,71$, $p < 0,05$) и продуктивных стеблей ($r = 0,71$, $p < 0,05$) на 1 м², сохранившихся к уборке, высоты растений ($r = 0,82$, $p < 0,05$), содержания хлорофилла в клетках флаговых листьев ($r = 0,28$, $p > 0,05$), числа зерен в колосе ($r = 0,73$, $p < 0,05$). По комплексу селекционно ценных признаков отобраны пять мутантных образцов яровой мягкой пшеницы, характеризующихся относительно высоким биологическим потенциалом при сравнении с другими образцами и стандартными сортами. Следует отметить, что эти мутанты имели одинаковый аллельный состав глиадинов. Урожайность была выше в 2022 году и составила у лучших мутантов 396,1-518,2 г/м², у стандартных сортов 355,0-424,5 г/м². Таким образом, потенциал адаптации яровой мягкой пшеницы в экстремальных условиях Северного Зауралья может быть увеличен за счет использования генетической изменчивости мутантных популяций. Доказан биологический эффект химического мутагена фосфемиды для индуцирования полезных мутаций *T. aestivum*. Для увеличения генетического разнообразия эффективно комплексное использование мутационной и рекомбинационной изменчивости.

Ключевые слова: *Triticum aestivum*, яровая мягкая пшеница, генотип, мутантные формы, глиадинкодирующие локусы, стресс, устойчивость, количественные признаки, корреляция.

Климатические изменения, приводящие к засухам, засолению почв, преобладанию высоких температур, появлению новых болезней и вредителей, рассматриваются как серьезная угроза мировому растениеводству (1).

* Работа выполнена при поддержке проекта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации № FEWZ-2021-0007 «Адаптивная способность сельскохозяйственных растений в экстремальных условиях Северного Зауралья».

Растущий спрос на увеличение производства сельскохозяйственных культур с целью удовлетворения потребности в продуктах питания сделал необходимым поиск эффективных методов для улучшения растений.

Современное понимание селекционно-генетического улучшения растений предусматривает интеграцию традиционных и молекулярных методов. Из имеющихся селекционно-генетических инструментов, позволяющих создавать исходный материал культурных растений с хозяйственно ценными признаками, перспективно применение индуцированного (искусственного) мутагенеза. Методом мутационной селекции получено 3402 мутантных сорта различных сельскохозяйственных культур, зарегистрированных в базе данных Международного агентства по атомной энергии (ФАО/МАГАТЭ, <http://mvgs.iaea.org>), из них 265 сортов пшеницы (2).

Результативность молекулярно-генетического анализа зависит от свойств мутантной популяции, которые определяют частоту мутаций, их разнообразие и качество. Учитывая, что рекомбинационная изменчивость может усиливаться в меняющихся условиях среды (что характерно для резко континентального климата Западной Сибири), следует ожидать повышения вероятности возникновения форм растений с трансгрессивным выражением признаков в поколениях.

Чтобы использовать эти генетические ресурсы в селекционных программах, необходимо оценить степень их генетической и фенотипической изменчивости (3), что повысит эффективность процесса селекции (4). Морфологическая оценка растений остается одним из важных методов, несмотря на то, что морфологические признаки контролируются разными генами (5) и находятся под влиянием факторов окружающей среды (6).

Продолжается поиск химических веществ, обладающих мутагенными свойствами и позволяющих эффективно менять наследственную природу культурных растений (7, 8).

В настоящей работе впервые установлен биологический потенциал химического мутагена фосфемиды на яровой мягкой пшенице. Выявлено, что обработка семян водным раствором мутагена в оптимальных концентрациях эффективна для увеличения генетической изменчивости и отбора селекционно ценных форм.

Нашей целью было увеличение генетического разнообразия яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) с использованием химического мутагена фосфемиды и определение биологического потенциала мутантных образцов (М5, М6) по изменчивости различных категорий признаков в условиях Северного Зауралья.

Методика. Исходный материал яровой мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. был подобран по результатам предварительного изучения образцов из мировой коллекции Всероссийского института генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР) в Тюменской области в 2006-2010 годах.

Сорт Скэнт 3 (var. *lutescens*; оригинаторы — НИИ сельского хозяйства Северного Зауралья, Казахский НИИ земледелия и селекции) был создан методом индивидуального отбора из популяции F₃ [F₁ (Шторм × Саратовская 29) × Саратовская 29]; зарегистрирован по Тюменской области с 2003 года. Сорт Сара (к-64381, var. *eritrospermum*, Мексика) взят из мировой коллекции ВИР. По данным GRIS (Genetic Resources Information System for Wheat and Triticale, <http://wheatpedigree.net>), сорт является носителем гена устойчивости *Lr13*. Гибрид F₄ (Сара × Скэнт 3) отобран на основе диаллельного анализа признаков 5 родительских и 10 гибридных форм, полученных в Институте биологии Тюменского государственного университета.

Семена яровой пшеницы обрабатывали водным раствором фосфемид (0,002 %; 0,01 %) в течение 3 ч, в контроле семена выдерживали в дистиллированной воде. Фосфемид (phosphemidum), или ди-(этиленимид)-пиримидил-2-амидофосфорная кислота, — белый или желтоватый кристаллический порошок, растворимый в воде и спирте (препарат был синтезирован в Московском государственном университете им. М.В. Ломоносова).

Оценивали фенотипические изменения по морфологическим признакам колоса, стебля, листьев (окраска, опушение, форма, размеры) и по биологическим свойствам (позднеспелые, раннеспелые, растения озимого типа, карлики). Отбор во втором мутантном поколении (M₂), а также проверку на стабильность в третьем (M₃) и последующих поколениях проводили по признакам крупный, пирамидальный, спельтоидный колос, окраска соломины ярко-желтая и антоциановая, прочная соломина, широкий флаговый лист, высокорослые, позднеспелые, раннеспелые.

Нативный электрофорез запасного белка глиаина проводили на зерновках урожая 2021 года (M₅) по общепринятой методике (9) (Аналитический центр по определению качества почвы и растениеводческой продукции ТОО НПЦ ЗХ им. А.И. Бараева). Использовали вертикальные камеры для электрофореза VE-20 («Хеликон», Россия), химические реактивы категории extra pure («Sigma-Aldrich», США). Глиаины идентифицировали по каталогу аллелей глиадинкодирующих локусов (10). Обозначение локусов глиаина в соответствии с каталогом генов пшеницы было следующим: *Gli-A1*, *Gli-B1*, *Gli-D1*, *Gli-A2*, *Gli-B2* и *Gli-D2* (11).

В 2021-2022 годах провели полевое испытание 29 мутантных образцов пятого и шестого поколений (M₅, M₆), хранящихся в Институте биологии Тюменского государственного университета. Образцы сравнивали с исходными сортами и гибридом, а также с сортами, выращиваемыми в Тюменской области, — Тюменская 25, Тюменская 29 и Новосибирская 31.

Посев, наблюдения, учеты, описание морфологических признаков и биологических свойств на экспериментальном участке биостанции Тюменского государственного университета «Озеро Кучак» (Тюменская обл., Нижнетавдинский р-н, 57°20'57.3"N 66°03'21.8"E) были выполнены в соответствии с методическими указаниями (12, 13). Учетная площадь делянки — 1 м², повторность опыта 4-кратная, размещение делянок рендомизированное, число высеянных семян на 1 м² — 650 шт. (из расчета 6,5 млн всхожих семян/га), междурядье — 20 см. Посев проводили во II декаде мая, уборку — вручную в фазу полной спелости зерна. Почва участка — дерново-подзолистая супесчаная с содержанием гумуса 3,67 %, pH 6,6.

Высоту растений измеряли от поверхности почвы, включая верхний лист или колос в зависимости от фенологической фазы. Содержание хлорофилла в клетках флаговых листьев определяли при помощи оптического счетчика SPAD 502 («Minolta Camera Co., Ltd.», Япония) на 10 растениях в солнечную погоду, в период между 11⁰⁰ и 14⁰⁰. Расчет площади листовой пластинки проводили по формуле (14):

$$A = LWb_i$$

где L — длина листовой пластинки, см, W — максимальная ширина листовой пластинки, см; b_i — 0,835.

После уборки подсчитывали растения и продуктивные колосья на 1 м², определяли урожайность, а также число и массу зерна в колосе у 10 растений в каждой повторности.

Мониторинг условий окружающей среды осуществлялся с помощью профессиональной локальной метеостанции IMetos IMT300 («Pessl Instruments», Австрия), расположенной на экспериментальном участке, а

также с использованием данных по среднесуточной температуре воздуха и осадкам справочно-информационного портала «Погода и климат» (<http://www.pogodaiklimat.ru/>).

Статистическую обработку экспериментальных данных выполняли по апробированным методикам (12, 15) с использованием табличного процессора Microsoft Excel и программного обеспечения STATISTICA 6.0 («StatSoft, Inc.», США). Рассчитывали средние значения (M), стандартные ошибки средних ($\pm SEM$), коэффициенты вариации (Cv , %), оценивали достоверности различий между средними значениями вариантов с использованием t -критерия Стьюдента; выполняли корреляционный анализ.

Результаты. Предварительные цитогенетические исследования по воздействию мутагена фосфемид на растения выполняли на модельном объекте *Crepis capillaris* L., имеющем три пары четко различимых хромосом. Раствором фосфемид обрабатывали сухие семена, на проростках анализировали типы и число перестроек хромосом (16, 17). Важно было определить, как долго может сохраняться мутагенный эффект препарата. Мы установили, что при однократном применении мутагена фосфемид на семенах *C. capillaris* L. перестройки хромосом и частота проростков с митозами обнаруживаются в течение 3 мес. Следовательно, можно предположить, что при хранении обработанных семян мутаген фосфемид не разлагается и его эффект практически не снижается (16, 17).

На основании полученных результатов в исследовании на сортах и гибридной форме *T. aestivum* применяли однократную обработку семян с последующим использованием в лабораторном и полевом опытах. При подборе объекта исследования исходили из того факта, что указанный мутаген ранее не применялся, и одной из задач было определение его эффективности по частоте и спектру мутаций. В связи с этим мы отбирали такие образцы, которые бы отличались по ботанической и географической принадлежности и предположительно могли бы различаться реакцией на действие фосфемид. В поколении M_2 был идентифицирован широкий спектр мутаций с измененными растениями (12 типов) с частотой 30,3 % у гибрида и 15,3-28,5 % у исходных сортов. По числу мутаций, стабильно проявляющих признак в потомстве, преимущество имела концентрация раствора фосфемид 0,01 %.

1. Мутантные образцы яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), полученные с помощью химического мутагена фосфемид (экспериментальный участок биостанции Тюменского государственного университета «Озеро Кучак», Тюменская обл., Нижнетавдинский р-н, 2021-2022 годы)

№ образца	Обозначение	№ образца	Обозначение
1	P1к (Сага), контроль	17	P2 (0,002 %) Скэнт 3
2	F4к (Сага × Скэнт 3), контроль	18	P2 (0,002 %) Скэнт 3
3	P2к (Скэнт 3), контроль	19	P2 (0,002 %) Скэнт 3
4	F4 (0,01 %) Сага × Скэнт 3	20	P2 (0,002 %) Скэнт 3
5	F4 (0,01 %) Сага × Скэнт 3	21	F4 (0,002 %) Сага × Скэнт 3
6	P1 (0,002 %) Сага	22	P2 (0,002 %) Скэнт 3
7	P1 (0,002 %) Сага	23	P2 (0,002 %) Скэнт 3
8	P1 (0,002 %) Сага	24	P2 (0,002 %) Скэнт 3
9	P1 (0,002 %) Сага	25	P2 (0,002 %) Скэнт 3
10	F4 (0,01 %) Сага × Скэнт 3	26	P1 (0,01 %) Сага
11	F4 (0,01 %) Сага × Скэнт 3	27	P1 (0,01 %) Сага
12	F4 (0,01 %) Сага × Скэнт 3	28	P1 (0,01 %) Сага
13	F4 (0,01 %) Сага × Скэнт 3	29	P1 (0,01 %) Сага
14	P2 (0,002 %) Скэнт 3	30	P2 (0,01 %) Скэнт 3
15	P2 (0,002 %) Скэнт 3	31	P2 (0,01 %) Скэнт 3
16	P2 (0,002 %) Скэнт 3	32	F4 (0,002 %) Сага × Скэнт 3

Примечание. F4 — гибрид четвертого поколения, P1 — исходный сорт Сага, P2 — исходный сорт Скэнт 3. В скобках указана концентрация фосфемид.

Мутантные образцы яровой мягкой пшеницы, исследованные в работе, представлены в таблице 1.

В результате электрофоретического анализа зерна исходных и мутантных образцов были составлены генетические формулы глиаина мягкой пшеницы. Установлено, что часто мутанты имели идентичные спектры и, соответственно, формулу глиаина (табл. 2).

2. Генетические формулы глиаина мутантных образцов яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), полученных с помощью химического мутагена фосфемиды

№ образца	Глиаинкодирующие локусы (<i>Gli</i>)					
	<i>A1</i>	<i>B1</i>	<i>D1</i>	<i>A2</i>	<i>B2</i>	<i>D2</i>
1, 2 (контроль)	<i>c</i>	<i>l</i>	<i>d</i>	<i>n</i>	<i>p</i>	<i>b</i>
3 (контроль)	<i>a</i>	<i>e</i>	<i>b</i>	<i>f</i>	<i>t</i>	<i>a</i>
8, 10, 11, 12, 13	<i>c</i>	<i>l</i>	<i>d</i>	<i>n</i>	<i>p</i>	<i>b</i>
6, 7	<i>h</i>	<i>l</i>	<i>b</i>	<i>m</i>	<i>f</i>	<i>q</i>
17, 18, 19, 20	<i>o</i>	<i>f</i>	<i>a</i>	<i>l</i>	<i>p</i>	<i>n</i>
23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 16	<i>f</i>	<i>b</i>	<i>a</i>	<i>l</i>	<i>b</i>	<i>i</i>
5, 21, 22, 32	<i>c</i>	<i>e</i>	<i>b</i>	<i>n</i>	<i>p</i>	<i>q</i>
14, 30	<i>g</i>	<i>e</i>	<i>f</i>	<i>c</i>	<i>n</i>	<i>b</i>
4	<i>o</i>	<i>e</i>	<i>b</i>	<i>n</i>	<i>i</i>	<i>e</i>
9	<i>f</i>	<i>e</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>b</i>
15	<i>c</i>	<i>e</i>	<i>a</i>	<i>l</i>	<i>n</i>	<i>i</i>
31	<i>k</i>	<i>e</i>	<i>a</i>	<i>k</i>	<i>u</i>	<i>q</i>

Примечание. Номера соответствуют названиям образцов, приведенным в таблице 1.

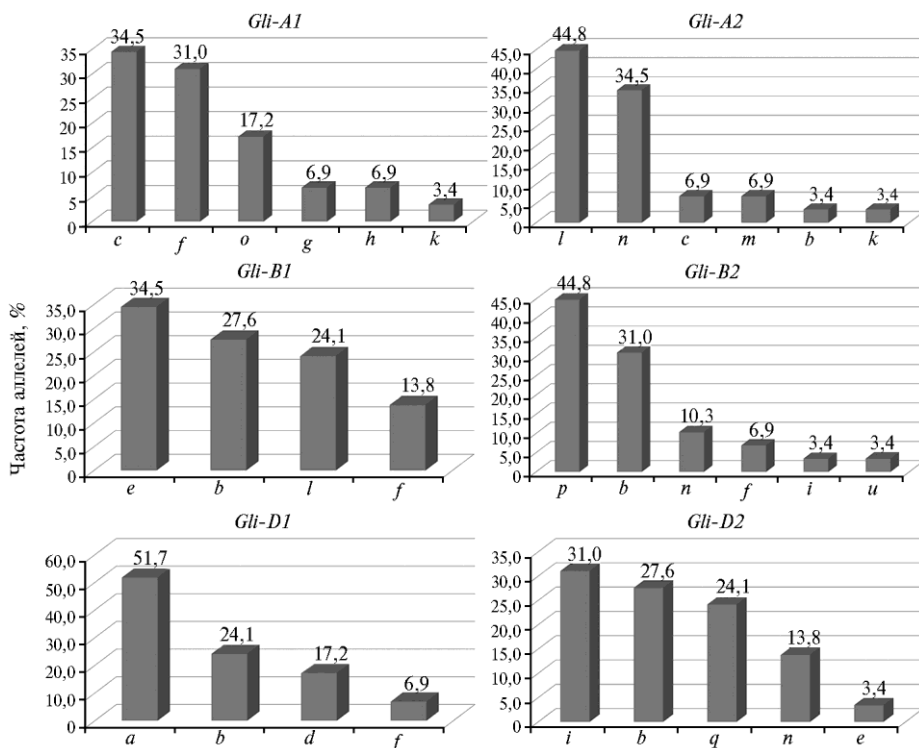


Рис. 1. Частота аллелей глиаинкодирующих локусов (%) у мутантных образцов яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), полученных с помощью химического мутагена фосфемиды.

По всем локусам присутствовали аллели, имеющие максимальную частоту встречаемости. Так, по 1-й гомеологической группе (локусы *Gli-A1*, *Gli-B1*, *Gli-D1*) чаще встречались аллели *Gli-A1c* и *Gli-B1e* (34,5 %), *Gli-D1a* (51,7 %). По 6-й гомеологической группе (локусы *Gli-A2*, *Gli-B2*, *Gli-D2*) преобладали аллели *Gli-A2l* и *Gli-B2p* (44,8 %) и аллель *Gli-D2i* (31,0 %). В целом, в результате электрофореза глиаина выявили 4 аллеля по локусам *Gli-B1* и *Gli-D1*, 5 аллелей по локусу *Gli-D2* и 6 аллелей по локусам *Gli-A1*,

Gli-A2 и *Gli-B2* (рис. 1).

Анализ глиадиновых формул показал высокую частоту встречаемости аллеля *Gli-A1c* (10 из 29 образцов). Стоит отметить, что этот аллель кодирует синтез блока глиадина, который весьма близок по количеству и подвижности компонентов с блоком глиадинов, контролируемых аллелем *Gli-A1a* (Скэнт 3) (10), отличие заключается лишь в подвижности одного белкового компонента в γ -зоне электрофоретического спектра. Перестройки генетического аппарата под действием мутагена возможны и проявляются в исчезновении или появлении одного-двух белковых компонентов в глиадиновом спектре (18). Вполне вероятно, что за счет действия мутагена произошли изменения в геноме, и это отразилось на глиадиновом спектре.

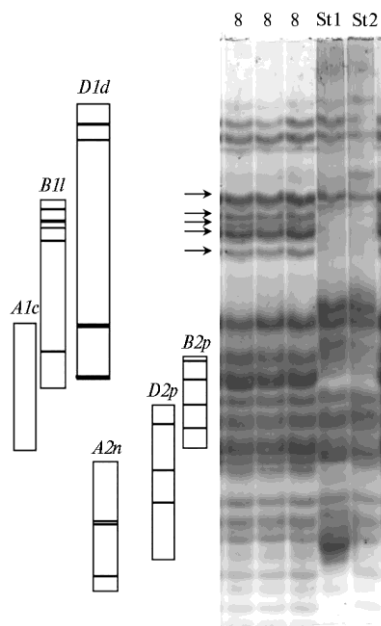


Рис. 2. Электрофореграмма и идентифицированные блоки глиадина у мутантной формы яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), полученной с помощью химического мутагена фосфемид: 8 — образец № 8 P₁ (0,002 %) Сага, St1 — сорт-стандарт Безостая 1, St2 — сорт-стандарт Мироновская 808. Стрелками обозначены основные компоненты, маркирующие пшенично-ржаную транслокацию.

с высокими показателями продуктивности и качества зерна, устойчивых к биотическим и абиотическим факторам среды.

Полевое испытание мутантных образцов яровой мягкой пшеницы пятого и шестого поколений (M₅, M₆), выделенных по результатам скрининга и дальнейшего отбора, проводили в контрастных условиях вегетационных периодов 2021-2022 годов (табл. 3).

Погодные условия вегетационного периода 2021 года обеспечили возможность отбора мутантных форм, способных противостоять водному и тепловому стрессу и формировать полноценное зерно. Рекордно аномальное превышение среднесуточной температуры воздуха относительно нормы (+6,3 °C) отмечали в мае в условиях атмосферной и почвенной засухи, когда количество выпавших осадков не превышало 10,2 % по сравнению с нормой.

По локусу *Gli-B1* аллель *Gli-B1e* имел максимальную частоту встречаемости (см. рис. 1). Стоит отметить, что этот аллель широко распространен во многих российских (19, 20) и казахстанских (21) сортах пшеницы и, вероятно, связан с хозяйственно ценными признаками.

Интерес представляет аллель *Gli-B1l*, контролирующий блок компонентов и служащий маркером пшенично-ржаной транслокации 1RS.1BL, который встречался с частотой 24,1 % (рис. 2). Этот аллель связан с устойчивостью растений к ряду заболеваний, а именно к мучнистой росе (*Pm8*), желтой ржавчине (*Yr9*), стеблевой ржавчине (*Sr31*), бурой ржавчине (*Lr26*) (22, 23).

Преобладающим аллелем по локусу *Gli-D1* был *Gli-D1a* с частотой 51,7 %. По локусу *Gli-A2* у мутантных форм идентифицировали аллели *l* и *n* с частотой встречаемости соответственно 44,8 и 34,5 %. Распространение аллеля *n* среди мутантных форм, вероятно, связано с сортом Сага, который несет его в своем генотипе.

В целом следует отметить, что в результате воздействия химического мутагена на исходные сорта и гибридную форму удалось расширить генетическое разнообразие по локусам глиадина. Это в дальнейшем может быть использовано при создании сортов

При относительно благоприятном температурном режиме в июне и июле сумма осадков составила соответственно 39,1 % и 57,6 % к норме. В августе зерно созревало при повышенных среднесуточных температурах воздуха и дефиците осадков (33,3 % от нормы).

Для роста и развития растений в 2022 году лимитирующим фактором также был недостаток влаги, но вредоносность засушливых периодов оказалась снижена за счет незначительно отличающихся от нормы среднесуточных температур воздуха. Анализ среднесуточной температуры воздуха за вегетационный период выявил отклонение от нормы в июне (ниже на 1,3 °С), июле (выше на 0,9 °С), августе (выше на 2,3 °С). Количество осадков только в мае значительно превышало среднее многолетнее значение, в остальные месяцы показатель относительно нормы изменялся от 101,5 (июнь) до 76,2 % (август).

3. Характеристика вегетационных периодов 2021-2022 годов по среднесуточной температуре воздуха и количеству осадков (экспериментальный участок биостанции Тюменского государственного университета «Озеро Кучак», Тюменская обл., Нижнетавдинский р-н)

Месяц	Среднесуточная температура воздуха, °С			Сумма осадков, мм		
	<i>n</i>	2021 год	2022 год	<i>n</i>	2021 год	2022 год
Май	11,3	17,6	12,1	45,3	4,6	93,9
Июнь	17,1	18,0	15,8	58,5	22,9	59,4
Июль	18,8	18,6	19,7	86,0	49,6	65,5
Август	15,8	19,5	18,1	60,0	20,0	56,0
<i>M</i> , °С	15,8	18,4	16,4			
Σ , мм				249,8	97,1	274,8

Примечание. *n* — средние многолетние значения (1968-2021 годы), условная норма.

Были выявлены значительные вариации количественных признаков под воздействием факторов окружающей среды (табл. 4).

4. Морфофизиологические признаки у мутантных образцов яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), полученных с помощью химического мутагена фосфемиды, в контрастных условиях выращивания (экспериментальный участок биостанции Тюменского государственного университета «Озеро Кучак», Тюменская обл., Нижнетавдинский р-н)

Признак	2021 год		2022 год		Индекс сравнения, %
	<i>M</i> ±SEM	<i>Cv</i> , %	<i>M</i> ±SEM	<i>Cv</i> , %	
Высота растений, см	55,3±2,13	22,87	76,4±2,36*	18,38	38,2
Длина флаг-листа, см	10,8±0,21	11,20	17,4±0,28*	9,38	61,1
Ширина флаг-листа, мм	8,5±0,30	20,69	12,1±0,23*	11,18	42,4
Площадь флаг-листа, см ²	6,4±0,30	28,06	14,3±0,38*	15,92	23,4
Содержание хлорофилла, ед. Spad	49,2±2,02	6,71	45,1±0,64	8,38	9,1
Число продуктивных стеблей на 1 м ²	249,0±8,27	23,79	358,0±10,93*	20,89	43,8
Длина колоса, см	6,1±0,46	16,64	8,1±0,17*	12,50	32,8
Число зерен в колосе, шт.	15,0±3,00	41,83	30,2±1,18*	22,92	101,3
Масса зерен с колоса, г	0,42±0,08	49,23	1,0±0,04*	28,88	147,6
Урожайность, г/м ²	138,1±4,88	20,96	279,4±7,75*	25,04	102,3

Примечание. Размеры выборок см. в разделе «Методика».

* Различия при сравнении по годам статистически значимы соответственно при $p < 0,01$.

Период вегетации 2022 года был более благоприятным по сравнению с 2021 годом для проявления ряда признаков. В фазу колошения растения имели преимущество по высоте и развитию флагового листа (длина, ширина, площадь). Было получено больше растений и продуктивных стеблей к уборке, что свидетельствовало о повышенной выживаемости растений и обеспечивало увеличение урожайности.

Выявлено влияние засухи на физиологическое развитие растений яровой пшеницы. На водный и тепловой стресс в 2021 году растения отвечали увеличением количества хлорофилла в клетках флаг-листа. В исследовании М. Yildirim с соавт. (24) сообщается, что измерение содержания

хлорофилла в листьях в фазу молочной спелости зерна можно использовать при отборе растений пшеницы с высоким потенциалом урожайности как в относительно оптимальных условиях, так и при тепловом стрессе.

Степень изменчивости признаков в большинстве случаев повышалась под воздействием стресс-факторов, что подтверждалось коэффициентом вариации. Различия по годам исследования наиболее значительно проявились по массе зерна и числу зерен в колосе, а также по урожайности. Минимальное снижение под воздействием стресса отмечали по содержанию хлорофилла в клетках флагового листа и его площади.

Корреляция между урожайностью изученных мутантных образцов и важными количественными признаками зависела от генотипа и факторов окружающей среды (рис. 3).

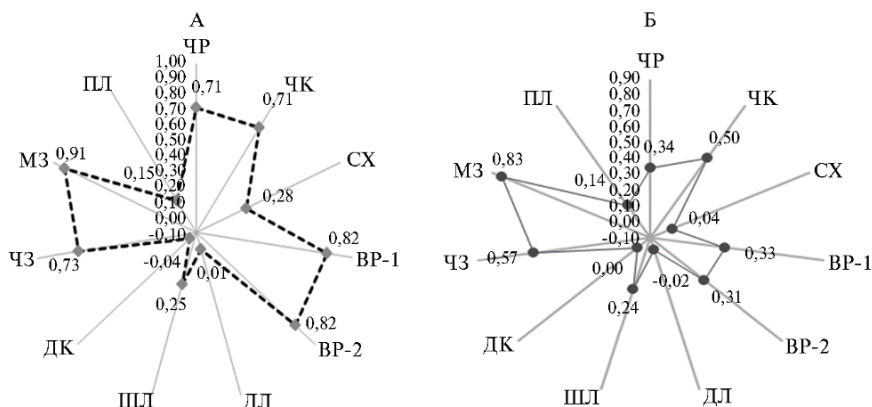


Рис. 3. Корреляция урожайности с количественными признаками в 2021 (А) и 2022 (Б) годах у мутантных образцов яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), полученных с помощью химического мутагена фосфемиды: ЧР — число растений на 1 м², ЧК — число колосьев на 1 м², СХ — содержание хлорофилла, ед. Spad, ВР-1 — высота растений, см (учеты 20.06.2021 года, 29.06.2022 года), ВР-2 — высота растений, см (учеты 10.07.2021 года, 17.07.2022 года), ДЛ — длина листа, см, ШЛ — ширина листа, см, ПЛ — площадь одного листа, см², ДК — длина колоса, см, ЧЗ — число зерен в одном колосе, шт., МЗ — масса зерна в одном колосе, г (экспериментальный участок биостанции Тюменского государственного университета «Озеро Кучак», Тюменская обл., Нижнетавдинский р-н).

В засушливом 2021 году обнаружили значительную взаимосвязь урожайности с высотой растений при двух промерах (фенологические фазы выход в трубку и колошение) ($r = 0,82$, $p < 0,05$), числом растений ($r = 0,71$, $p < 0,05$) и продуктивных колосьев с 1 м² ($r = 0,71$, $p < 0,05$), числом ($r = 0,73$, $p < 0,05$) и массой ($r = 0,91$, $p < 0,05$) зерен в колосе. Выявлена прямая связь урожайности с содержанием хлорофилла в клетках флагового листа ($r = 0,28$, $p > 0,05$) и его шириной ($r = 0,25$, $p > 0,05$).

В 2022 году корреляция между урожайностью и массой зерна с колоса ($r = 0,83$, $p < 0,05$) оставалась высокой, связь средней силы обнаружили с числом продуктивных колосьев на 1 м² ($r = 0,50$, $p < 0,05$) и числом зерен в колосе ($r = 0,57$, $p < 0,05$). Влияние других признаков (кроме ширины и площади флагового листа) на формирование зерновой продуктивности уменьшилось.

По комплексу селекционно ценных признаков из мутантных популяций были отобраны пять образцов, существенно превосходящих исходные формы и соответствовавших уровню сортов, выращиваемых в Тюменской области (Тюменская 25, Тюменская 29, Новосибирская 31) (рис. 4, табл. 5).

5. Характеристика лучших мутантных образцов яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), полученных с помощью химического мутагена фосфемиды, при сравнении с сортами-стандартами по результатам полевого испытания в контрастных условиях вегетационных периодов двух лет ($M \pm SEM$, экспериментальный участок биостанции Тюменского государственного университета «Озеро Кучак», Нижнетавдинский р-н Тюменской обл.)

П	Образец № 4 F4 (0,01 %) Сага × Скэнт 3		Образец № 5 F4 (0,01 %) Сага × Скэнт 3		Образец № 17 P2 (0,002 %) Скэнт 3		Образец № 20 P2 (0,002 %) Скэнт 3		Образец № 32 F4 (0,002 %) Сага × Скэнт 3		Тюменская 25		Тюменская 29		Новосибирская 31	
	2021	2022	2021	2022	2021	2022	2021	2022	2021	2022	2021	2022	2021	2022	2021	2022
	1	46,4±1,36a	62,2±2,24b	51,6±1,57a	66,5±1,80a	60,8±1,03a	91,7±1,86a	62,1±1,33b	81,9±1,60	53,3±0,64a	68,4±1,17	72,3±0,86	92,5±1,53	70,7±0,73	90,5±1,16	67,3±1,50
2	13,6±0,43	16,3±1,16a	12,2±0,54	17,8±0,51b	10,7±0,69	17,7±0,66b	10,9±0,62a	18,5±0,86	10,4±0,57a	18,9±1,08	13,2±0,53	17,4±0,87	12,3±0,56	19,5±1,02	13,0±0,56	19,4±0,68
3	6,4±0,32a	12,2±0,58	7,4±0,51b	11,8±0,40c	8,6±0,37b	14,4±0,68c	8,2±0,37b	14,6±0,80c	8,8±0,40b	13,6±0,93	11,2±0,51	12,8±0,51	10,3±0,32	11,6±0,40	10,4±0,45	11,2±0,45
4	7,27	16,51	7,53	17,54	7,68	21,28	7,46	22,55	7,64	21,46	12,34	18,60	10,58	18,89	11,29	18,14
5	46,8±0,71b	46,6±1,16c	47,2±0,78b	45,9±2,90c	49,1±1,18b	45,3±2,50c	49,5±0,83b	44,4±1,00c	54,8±0,67	45,6±1,53b	53,2±1,62	51,1±0,96	55,5±1,64	42,3±0,64	51,7±1,41	44,0±0,62
6	246±8,2	408±13,6b	229±7,6c	417±10,8a	242±7,5c	322±11,1c	236±6,7	386±8,1	278±9,7b	436±8,9a	259±12,0	306±9,3	246±5,5	272±9,8	229±7,8	317±10,1
7	8,3±0,47a	9,4±0,49	9,2±0,83a	9,6±0,82	5,7±0,36	8,3±0,21	5,6±0,37	8,8±0,77a	7,4±0,73a	9,1±0,54a	6,2±0,72	8,4±0,62	6,4±0,71	8,3±0,36	6,4±0,59	7,4±0,31
8	24,0±6,38c	39,0±3,45	21,0±2,97b	45,0±2,27c	19,0±4,04b	38,0±3,95	16,0±4,26b	30,0±2,74b	13,0±3,24a	26,0±3,03c	18,0±3,25	41,0±2,30	23,0±4,32	37,0±3,17	26,0±5,49	39,0±3,26
9	0,47±0,13a	1,3±0,15b	0,54±0,08a	1,02±0,10a	0,65±0,14b	1,23±0,17a	0,66±0,17b	1,05±0,09a	0,31±0,08a	0,95±0,12a	0,63±0,12	1,42±0,13	0,79±0,15	1,31±0,10	0,76±0,16	1,12±0,18
10	115,6±2,90a	518,2±3,66a	123,7±3,08a	425,3±4,85b	157,3±4,12a	396,1±5,63b	155,8±4,01c	405,3±5,70b	86,2±4,83a	414,2±6,05	163,3±4,56	424,5±4,07	194,3±5,63	356,3±3,68	174,0±6,71	355,0±4,86

Примечание. П — признак: 1 — высота растений, см, 2 — длина флаг-листа, см, 3 — ширина флаг-листа, мм, 4 — площадь флаг-листа, см², 5 — содержание хлорофилла, ед. Spad, 6 — число продуктивных стеблей/м², 7 — длина колоса, см, 8 — число зерен в колосе, шт., 9 — масса зерен с колоса, г, 10 — урожайность, г/м². Размеры выборок см. в разделе «Методика».

a, b, c Различия статистически значимы ($p < 0,05$) при сравнении соответственно с тремя стандартами, с двумя стандартами и с одним стандартом.



Рис. 4. Зерно мутантных образцов яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), полученных с помощью химического мутагена фосфемид: а — образец № 4 F₄ (0,01 %) Cara × Скэнт 3, б — образец № 5 F₄ (0,01 %) Cara × Скэнт 3, в — образец № 17 P₂ (0,002 %) Скэнт 3, г — образец № 20 P₂ (0,002 %) Скэнт 3, д — образец № 32 F₄ (0,002 %) Cara × Скэнт 3 (экспериментальный участок биостанции Тюменского государственного университета «Озеро Кучак», Тюменской обл., Нижнетавдинский р-н, 2022 год).

Три образца были отобраны из популяции гибрида Cara × Скэнт 3 после обработки семян фосфемидом в двух концентрациях (0,01 % и 0,002 %), два образца созданы на основе сорта Скэнт 3 (концентрация 0,002 %). Потенциал зерновой продуктивности сильнее проявился в более благоприятных условиях вегетации растений в 2022 году (396,1–518,2 г/м²); у сортов-стандартов урожайность составила 355,0–424,5 г/м².

Сравнение мутантных образцов с сортами-стандартами по морфофизиологическим признакам выявило некоторые особенности в реакции на стресс-факторы окружающей среды.

По высоте растения-мутанты, полученные на основе гибрида, существенно уступали в оба года исследований мутантам, отобранным из сорта Скэнт 3, и стандартам. Максимальное значение длины флагового листа в 2021 году отмечали у образца № 5 F₄ (0,01 %) Cara × Скэнт 3, в 2022 году — у образца № 32 F₄ (0,002 %) Cara × Скэнт 3. У стандартов по длине и ширине флаг-листа выделились сорта Тюменская 25 (2021 год) и Новосибирская 31 (2022 год). Закономерность, выявленная в целом по всему изученному материалу и проявившаяся в увеличении содержания хлорофилла во флаговом листе, подтвердилась данными, полученными для лучших мутантных образцов.

Недостаток влаги на фоне повышенных температур воздуха приводил к снижению выживаемости растений в течение вегетационного периода, числа продуктивных стеблей на 1 м², числа и массы зерен в колосе. Следует отметить, что максимальное и минимальное число продуктивных колосьев у мутантных образцов и сортов-стандартов в 2021 году имело относительно небольшие различия, соответственно 229–278 и 229–259 шт/м². В 2022 году этот признак изменялся у мутантов в пределах 322–436 шт/м², у стандартов — 272–317 шт/м². При меньшем числе растений и продуктивных стеблей на момент уборки районированные сорта по сравнению с новыми образцами имели преимущество по числу зерен в колосе и их массе.

По нашим данным, недостаток влаги в сочетании с повышенными температурами воздуха оказывал лимитирующее влияние на рост растений в высоту и развитие ассимиляционной поверхности, что мы наблюдали в 2021 году. Другие исследователи также сообщают об ограничении роста пшеницы в период засухи, что отражается на показателях высоты растений, площади листьев, на сухой массе и других функциях роста (25, 26).

Установлено, что засухоустойчивые генотипы сохраняют высокое содержание хлорофилла в листьях, необходимое для фотосинтеза (27). Кроме того, хлорофилл рассматривается как индикатор фотосинтетической активности, биосинтеза ассимилятов (28), что позволяет использовать его содержание для отбора засухоустойчивых форм пшеницы (29).

Наши данные указывают на увеличение содержания хлорофилла в клетках флагового листа под воздействием водного и температурного стресса в среднем по коллекции мутантных образцов до $49,2 \pm 2,0$ ед. Spad против $45,1 \pm 0,64$ ед. Spad в относительно благоприятных погодных условиях. Так, различия по содержанию хлорофилла в листьях в 2021 году по сравнению с 2022 годом оказались наиболее выражены у трех перспективных для дальнейшего использования в селекционном процессе образцов: № 17 P₂ (0,002 %) Скэнт 3 — 8,3 %; № 20 P₂ (0,002 %) Скэнт 3 — 11,5 %; № 32 F₄ (0,002 %) Cara × Скэнт 3 — 20,2 % (см. табл. 5). Можно предположить, что образец № 32 F₄ (0,002 %) Cara × Скэнт 3 является толерантным генотипом, поскольку он содержит наибольшее количество хлорофилла $54,8 \pm 0,67$ ед. Spad по сравнению с другими генотипами. В листьях образца № 4 F₄ (0,01 %) Cara × Скэнт 3 количество хлорофилла было практически одинаковым по годам — $46,8 \pm 0,71$ и $46,6 \pm 1,16$ ед. Spad соответственно в 2021 и 2022 годах.

Оптимальная температура для процесса фотосинтеза в растениях пшеницы составляет около 25 °C (30). Показано, что превышение температуры воздуха на 1 °C в период налива зерна снижает урожайность на 3-4 % (31). Как сообщают S.S. Bhullar с соавт. (32), если тепловой стресс возникает в период после цветения (период налива зерна), это отрицательно влияет на процесс фотосинтеза, ингибирует синтез крахмала, что приводит к снижению массы зерна и урожайности. По нашим усредненным данным, у изученных образцов в условиях стресса в колосе формировалось в 2 раза меньше зерновок, их масса снижалась в 2,5 раза, урожайность — в 2 раза. Высокие температуры воздуха (30 °C и более) в период цветения и опыления оказались критическими для формирования зерна в колосе. В ряде случаев в колосе образовались только единичные зерновки. В связи с тем, что отбор засухоустойчивых форм только по урожайности не всегда эффективен (33), рекомендуется для относительно быстрой и объективной оценки генотипов использовать морфологические и физиологические признаки, играющие важную роль в адаптации растений (34). Комплексный подход позволил нам отобрать ценные генотипы яровой мягкой пшеницы, начиная с ранних мутантных поколений (35). Теоретические основы химического мутагенеза, предложенные И.А. Рапопортом (36), продолжают оставаться актуальными для повышения эффективности мутационной селекции растений.

Следует отметить, что у отобранных по ряду признаков мутантов (M₅, M₆) имелись идентичные аллели. Так, образцы № 4 F₄ (0,01 %) Cara × Скэнт 3, № 5 F₄ (0,01 %) Cara × Скэнт 3, № 32 F₄ (0,002 %) Cara × Скэнт 3 несли одинаковые аллели по локусам глиадина *B1*, *D1* и *A2*. Аллель *Gli-A1a* был общим для образцов № 4 F₄ (0,01 %) Cara × Скэнт 3, № 17 P₂ (0,002 %) Скэнт 3, № 20 P₂ (0,002 %) Скэнт 3, а *Gli-B2p* — для мутантов № 5 F₄ (0,01 %) Cara × Скэнт 3, № 32 F₄ (0,002 %) Cara × Скэнт 3, № 17 P₂ (0,002 %) Скэнт 3, № 20 P₂ (0,002 %) Скэнт 3. Также заметим, что для аллелей *Gli-B1e* и *Gli-B1f*, которые встречались у выделившихся мутантов, число и относительная электрофоретическая подвижность глиадинов были схожими, за исключением одного компонента. Поэтому допустимо предположить, что и влияние, которое аллели *Gli-B1e* и *Gli-B1f* могут иметь на морфологические признаки, окажется подобным.

Таким образом, потенциал адаптации яровой мягкой пшеницы в экстремальных условиях Северного Зауралья может быть увеличен за счет использования генетической изменчивости мутантных популяций. Доказан биологический эффект химического мутагена фосфемиды для индуцирования полезных мутаций *Triticum aestivum* L. Для увеличения генетического

разнообразия эффективно комплексное использование мутационной и рекомбинационной изменчивости. Под воздействием водного и температурного стресса у ряда мутантных образцов отмечено увеличение содержания хлорофилла в клетках флагового листа при сравнении с показателями в благоприятных погодных условиях. Выявленные различия могут быть использованы как индикатор отбора форм, устойчивых к неблагоприятным факторам окружающей среды. Мутантные образцы, характеризующиеся разнообразными фенотипическими и генотипическими вариациями, могут быть полезны для улучшения хозяйственно ценных признаков пшеницы. По результатам полевого испытания мутантов поколений M₅, M₆ лучшие из них представляют интерес для селекционно-генетических программ.

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

¹ФГАОУ ВО Тюменский государственный университет,
625003 Россия, г. Тюмень, ул. Володарского, 6,
e-mail: bomena@mail.ru ✉, corolev.konstantin2016@yandex.ru,
samuel.biotech@yandex.ru;

Поступила в редакцию
7 ноября 2023 года

²ТОО Научно-производственный центр зернового
хозяйства им. А.И. Бараева,
021600 Республика Казахстан, Акмолинская обл.,
Шортандинский р-н, п. Научный,
e-mail: phytochem@yandex.ru;

³ФГБУН Институт биохимической физики
им. Н.М. Эмануэля РАН,
119334 Россия, г. Москва, ул. Косыгина, 4,
e-mail: liv11@yandex.ru

Sel'skokhozyaystvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2024, V. 59, № 1, pp. 92-105

ANALYSIS OF THE *Triticum aestivum* L. GENETIC DIVERSITY INDUCED BY THE CHEMICAL MUTAGEN PHOSPHEMIDE

N.A. Bome¹ ✉, S. Salekh¹, M.U. Utebayev², K.P. Korolev¹, L.I. Weisfeld³

¹Tyumen State University, 6, ul. Volodarskogo, Tyumen, 625003 Russia, e-mail bomena@mail.ru (✉ corresponding author), corolev.konstantin2016@yandex.ru, samuel.biotech@yandex.ru;

²Limited Liability Partnership A.I. Barayev Research and Production Centre of Grain Farming, Republic of Kazakhstan, 021600, Akmola region, Shortandinsky District, Nauchny village, e-mail phytochem@yandex.ru;

³Emanuel Institute of Biochemical Physics RAS, 4, ul. Kosygina, Moscow, 119334 Russia, e-mail liv11@yandex.ru

ORCID:

Bome N.A. orcid.org/0000-0002-5467-6538

Korolev K.P. orcid.org/0000-0001-9595-3493

Salekh S. orcid.org/0009-0007-6907-7371

Weisfeld L.I. orcid.org/0000-0002-8449-3979

Utebayev M.U. orcid.org/0000-0003-0729-0592

The authors declare no conflict of interests

Acknowledgements:

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

Supported financially by the project of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation No. FEWZ-2021-0007 "Adaptive ability of agricultural plants in extreme conditions of the Northern Trans-Urals"

Final revision received November 7, 2023

doi: 10.15389/agrobiol.2024.1.92eng

Accepted November 22, 2023

Abstract

Currently, climate change and growing demand for food necessitate effective methods for crop improvement. Induced mutagenesis is a promising tool to create breeding material. This work, for the first time, established the potential of the chemical mutagen phosphemide on spring soft wheat. Particularly, it was revealed that seed treatment with an aqueous solution of the mutagen in optimal concentrations effectively increases genetic variability to select economically valuable forms. Our goal was to increase the genetic diversity of spring bread wheat (*Triticum aestivum* L.) using the chemical mutagen phosphemide and to determine the biological potential of mutants (M₅, M₆) based on the variability of morphological and productive traits under the conditions of the Northern Trans-Urals. A total of 29 spring soft wheat samples selected from mutant populations of two cultivars, Cara and Skant 3, from a hybrid (Cara × Skant 3), as well as three control cultivars, the Tyumenskaya 25, Tyumenskaya 29, Novosibirskaya 31 were involved in the study. Mutant samples were generated using the chemical mutagen phosphemide. The seeds were treated with a 0.002 and 0.01 % phosphemide

aqueous solution for 3 hours. Identification of mutations and testing their stability were carried out in the second (M₂) and third (M₃) generations. Here, we submit data for M₅ and M₆ mutants grown under contrasting meteorological conditions in 2021–2022. Sowing, observations, records, description of morphological characteristics and biological properties of plants were carried out at the experimental site of the biological station of the Tyumen State University “Lake Kuchak” (Nizhnetavdinsky District of Tyumen Province). Electrophoretic analysis of gliadins was carried out in caryopsis of the 2021 harvest (M₅). Based on grain electrophoretic analysis of the original and mutant plants, genetic formulas of gliadin were compiled, and the frequency of gliadin coding loci alleles (*Gli*) was determined. In field tests, significant differences occurred between genotypes in quantitative traits, e.g., plant height, linear dimensions and area of the flag leaf, number of productive stem per 1 m², ear length, grain number and weight per ear. Correlation analysis revealed that the strength of the relationship between yield and other traits depends on the meteorological conditions of the growing season. The dependence of grain yield on the number of plants ($r = 0.71$, $p < 0.05$) and productive stems ($r = 0.71$, $p < 0.05$) per 1 m², on plant height ($r = 0.82$, $p < 0.05$), chlorophyll content in flag leaf cells ($r = 0.28$, $p > 0.05$), and the number of grains per ear ($r = 0.73$, $p < 0.05$) was stronger under water and heat stress. Five mutants of spring soft wheat with a relatively high biological potential compared to other samples and standard cultivars were selected for a set of valuable traits. These mutants had the same allelic composition for gliadins. The yield was higher in 2022 and amounted to 396.1–518.2 g/m² for the best mutants, and 355.0–424.5 g/m² for the standard cultivars. Thus, the adaptation potential of spring soft wheat in the Northern Trans-Urals extreme conditions can be increased due to genetic variability of mutant populations. The biological effect of the chemical mutagen phosphemide has been proven to induce beneficial mutations in *T. aestivum*. Therefore, combination of mutational and recombination variability is effective in increasing genetic diversity.

Keywords: spring soft wheat, genotype, mutant forms, gliadin-coding loci, stress, resistance, quantitative characters, correlation.

REFERENCES

1. Eastwood R.J., Tambam B.B., Aboagye L.M., Akparov Z.I., Aladele S.E., Allen R., Amri A., Anglin N.L., Araya R., Arrieta-Espinoza G., et al. Adapting agriculture to climate change: a synopsis of coordinated national crop wild relative seed collecting programs across five continents. *Plants*, 2022, 11(14): 1840 (doi: 10.3390/plants11141840).
2. *Mutant variety database*. Available: <https://nucleus.iaea.org/sites/mvd/SitePages/Home.aspx>. No date.
3. *Genetic resources in plants — their exploitation and conservation*. O.H. Frankel, E. Bennett, in associations with R.D. Brock, A.H. Bunting, J.R. Harlan, E. Schreiner. Oxford and Edinburgh, 1970.
4. Barrett B.A., Kidwell K.K., Fox P. Comparison of AFLP and pedigree-based genetic diversity assessment methods using wheat cultivars from the Pacific Northwest. *Crop Science*, 1998, 38(5): 1271–1278 (doi: 10.2135/cropsci1998.0011183X003800050026x).
5. Van Beuningen L.T., Busch R.H. Genetic diversity among North American spring wheat cultivars: III. Cluster analysis based on quantitative morphological traits. *Crop Science*, 1997, 37(3): 981–988 (doi: 10.2135/cropsci1997.0011183X003700030046x).
6. Smith J.S.C. Genetic variability within U.S hybrid maize: multivariate analysis of isozyme data. *Crop Science*, 1984, 24(6): 1041–1046 (doi: 10.2135/cropsci1984.0011183X002400060009x).
7. Morgun V.V., Katerinchuk A.M., Chugunkova T.V. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra Rossiyskoy akademii nauk*, 2013, 15(3/5): 1666–1669 (in Russ.).
8. Rengarten G.A. *Vestnik Kurskoy gosudarstvennoy sel'skokhozyaystvennoy akademii*, 2022, 4: 42–46 (in Russ.).
9. Metakovsky E.V. Gliadin allele identification in common wheat. I. Methodological aspects of the analysis of gliadin pattern by one-dimensional polyacrylamide — gel electrophoresis. *Journal of Genetics and Breeding*, 1991, 45(4): 317–324.
10. Metakovsky E.V., Novoselskaya A.Yu. Gliadin allele identification in common wheat. II. Catalogue of gliadin alleles in common wheat. *Journal of Genetics and Breeding*, 1991, 45(4): 325–344.
11. McIntosh R.A., Yamazaki Y., Dubcovsky J., Rogers W.J., Morris C.F., Somers D.J., Appels R., Devos K.M. *Catalogue of gene symbols for wheat*, 2008. Available: <http://wheat.pw.usda.gov/GG2/Triticum/wgc/2008/>. No date.
12. Dospikhov B.A. *Metodika polevogo opyta (s osnovami statisticheskoy obrabotki rezul'tatov issledovaniy)* [Methods of field trials]. Moscow, 2014 (in Russ.).
13. Gradchaninova O.D., Filatenko A.A., Rudenko M.I. *Metodicheskie ukazaniya po izucheniyu mirovoy kolleksii pshenitsy* [Guidelines for studying the world's wheat collection]. Leningrad, 1987 (in Russ.).
14. Miralles D.J., Slafer G.A. A simple model for nondestructive estimates of leaf area in wheat. *Cereal Research Communications*, 1991, 4: 439–444.
15. Lakin G.F. *Biometriya* [Biometrics]. Moscow, 1990 (in Russ.).
16. Vaysfel'd L.I. *Materialy Mezhdunarodnoy nauchnoy konferentsii «Selektivno-genetichna nauka i*

- osvita (*Parievi chitannya*)» [Proc. Int. Conf. «Breeding-genetic science and lighting (Parliamentary reading)». Uman', 2021: 40-43 (in Russ.).
17. Vaysfel'd L.I., Bome N.A., Tatarinov F.A. *Materialy Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii «Selektsiya i genetika: innovatsii i perspektivy»* [Proc. Int. Conf. «Breeding and genetics: innovations and prospects»]. Gorki, 2022: 173-180 (in Russ.).
 18. Sozinov A.A., Metakovskiy A.A., Pomortsev E.V. Problemy ispol'zovaniya blokov komponentov prolamina v kachestve geneticheskikh markerov u pshenitsy i yachmenya. *Sel'skokhozyaystvennaya biologiya* [Agricultural Biology], 1989, 1: 3-12 (in Russ.).
 19. Novoselskaya-Dragevich A.Y., Krupnov V.A., Saifulin R.A., Pukhalskiy V.A. Dynamics of genetic variation at gliadin-coding loci in Saratov cultivars of common wheat *Triticum aestivum* L. over eight decades of scientific breeding. *Russian Journal of Genetics*, 2003, 39(10): 1130-1137 (doi: 10.1023/A:1026170709964).
 20. Nikolaev A.A., Pukhal'skiy V.A., Upelnik V.P. Genetic diversity of local spring bread wheats (*Triticum aestivum* L.) of West and East Siberia in gliadin genes. *Russian Journal of Genetics*, 2009, 45(2): 189-197 (doi: 10.1134/S1022795409020094).
 21. Utebayev M., Dashkevich S., Bome N., Bulatova K., Shavrukov Y. Genetic diversity of gliadin alleles in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) from Northern Kazakhstan. *PeerJ*, 2019, 7: e7082. (doi: 10.7717/peerj.7082).
 22. Singh N.K., Shepherd K.W., McIntosh R.A. Linkage mapping of genes for resistance to leaf, stem and stripe rust and ω -secalins on the short arm of rye chromosome 1R. *Theoretical and Applied Genetics*, 1990, 80: 609-616 (doi: 10.1007/BF00224219).
 23. McIntosh R.A., Yamazaki Y., Dubcovsky J., Rogers J., Morris C., Appels R., Xia X.C. *Catalogue of gene symbols for wheat (12th International wheat genetics symposium)*. Yokohama, Japan, USDA, 2013.
 24. Yildirim M., Koç M., Akıncı K., Barutçular K. Variations in morphological and physiological features in wheat diallelic crosses under timely and late planting conditions. *Field Crop Research*, 2013, 140: 9-17 (doi: 10.1016/j.fcr.2012.10.001).
 25. Hasan M.A., Ahmed J.U., Bahadur M.M., Haque M.M., Sikder S. Effect of late planting heat stress on membrane thermostability, proline content and heat susceptibility index of different wheat cultivars. *Journal of the National Science Foundation Sri Lanka*, 2007, 35: 109-117 (doi: 10.4038/jnsfr.v35i2.3675).
 26. Kiliç H., Yağbasanlar T. The effect of drought stress on grain yield, yield components and some quality traits of durum wheat (*Triticum turgidum*) cultivars. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 2010, 38(1): 164-170.
 27. Bijanzadeh E., Emam Y. Effect of defoliation and drought stress on yield components and chlorophyll content of wheat. *Pakistan Journal Biological Sciences*, 2010, 13(14): 699-705 (doi: 10.3923/pjbs.2010.699.705).
 28. Manivannan P., Jaleel C.A., Sankar B., Kishorekumar A., Somasundaram R., Lakshmanan G.A., Panneerselvam R. Growth, biochemical modifications and proline metabolism in *Helianthus annuus* L. as induced by drought stress. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2007, 59(2): 141-149 (doi: 10.1016/j.colsurfb.2007.05.002).
 29. Schonfeld M.A., Johnson R.C., Carver B.F., Mornhinweg D.W. Water relations in winter wheat as drought resistance indicators. *Crop Science*, 1988, 28(3): 526-531 (doi: 10.2135/cropsci1988.0011183X002800030021x).
 30. Nagai T., Makino A. Differences between rice and wheat in temperature responses of photosynthesis and plant growth. *Plant and Cell Physiology*, 2009, 50(4): 744-755 (doi: 10.1093/pcp/pcp029).
 31. Wardlaw I.F., Dawson I.A., Munibi P., Fewster R. The tolerance of wheat to high temperatures during reproductive growth. I. Survey procedures and general response patterns. *Australian Journal of Agricultural Research*, 1989, 40(1): 1-13 (doi: 10.1071/AR9890001).
 32. Bhullar S.S., Jenner C.F. Differential responses to high temperatures of starch and nitrogen accumulation in the grain of four cultivars of wheat. *Australian Journal of Plant Physiology*, 1985, 12(4): 363-375 (doi: 10.1071/PP9850363).
 33. Sofi P.A., Ara A., Gull M., Rehman K. Canopy temperature depression as an effective physiological trait for drought screening. In: *Drought-detection and solutions*. G. Ondrasek (ed.). IntechOpen, 2019: 77-92 (doi: 10.5772/intechopen.85966).
 34. Sohail M., Hussain I., Qamar M., Tanveer S.K., Abbas S.H., Ali Z., Imtiaz M. Evaluation of spring wheat genotypes for climatic adaptability using canopy temperature as physiological indicator. *Pakistan Journal Biological Sciences*, 2020, 33(1): 89-96 (doi: 10.17582/journal.pjbs/2020/33.1.89.96).
 35. Bome N.A., Weisfeld L.I., Babaev E.V., Bome A.Ya., Kolokolova N.N. Influence of phosphomide, a chemical mutagen, on agrobiological signs of soft spring wheat *Triticum aestivum* L. *Sel'skokhozyaystvennaya biologiya* [Agricultural Biology], 2017, 52(3): 570-579 (doi: 10.15389/agrobiology.2017.3.570eng).
 36. Vaysfel'd L.I., Bome N.A. [Biosfera](https://doi.org/10.24855/biosfera.v14i3.689), 2022, 14(3): 245-253 (doi: 10.24855/biosfera.v14i3.689) (in Russ.).