



BIOMICS/БИОМИКА

ISSN 2221-6197 <http://biomicsj.ru>



ВЛИЯНИЕ ЗАСУХИ И ВЫСОКИХ ТЕМПЕРАТУР НА УРОЖАЙНОСТЬ И КАЧЕСТВО ЗЕРНА ФИОЛЕТОВОЗЕРНЫХ ЛИНИЙ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

Румянцева Н.И.¹, Валиева А.И.¹, Акулов А.Н.¹, Асхадуллин Дан.Ф.², Асхадуллин Дам.Ф.², Василова Н.З.²

¹Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН, г. Казань, 420111, Россия;

E-mail: nat_rumyantseva@mail.ru, valievalfiya@mail.ru

²Татарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства ФИЦ КазНЦ РАН, г. Казань, 420059, Россия

Резюме

Охарактеризовано влияние засухи и высоких температур (2015-2018 гг.) на прохождение основных фаз вегетации, урожайность, содержание и состав белков зерна, а также содержание фенольных соединений (ФС), антоцианов (АЦ) и антиоксидантную активность (АОА) зерна двух фиолетовозерных линий (163 и 193) и белозерного засухоустойчивого сорта Хазинэ яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.). Показано, что влияние засухи и высоких температур на урожай пшеницы зависит от устойчивости генотипа, от силы и продолжительности действия стрессовых факторов, от фазы репродуктивного развития растений. Чувствительными стадиями были фазы трубкования, колошения, цветения и налива зерна. В 2018 г. длительное воздействие высоких температур и засухи, начиная со стадии трубкования до стадии молочной спелости, привело к снижению урожайности всех генотипов, способствовало увеличению содержания белка по Кьельдалю и фракции неэкстрагируемых белков в зерне. В 2016 г. засуха в репродуктивный период и высокие температуры на стадии молочной спелости зерна, оказались более благоприятными для формирования урожая по сравнению с условиями 2018 г. Засуха 2016 г. не вызвала увеличения содержания белка по Кьельдалю, хотя способствовала увеличению фракции неэкстрагируемых белков в зерне сорта Хазинэ, но уменьшению содержания неэкстрагируемых белков в зерне фиолетовозерных линий. Уменьшение веса 1000 зерен в условиях засухи было отмечено только для линии 163. Показано, что зерно фиолетовозерных линий пшеницы незначительно отличалось по общему содержанию ФС от сорта Хазинэ, но при этом имело более высокую АОА. Засуха вызывала снижение содержания ФС и АЦ в зерне линии 163, но увеличение содержания ФС и АЦ в линии 193, что коррелировало со снижением или увеличением АОА. Изученные фиолетовозерные линии имели разную устойчивость к засухе, которая, отчасти, может объясняться способностью активировать биосинтез ФС и АЦ с высокой АОА в ответ на действие стрессоров.

Ключевые слова: *Triticum aestivum*, фиолетовозерная пшеница, засуха, высокие температуры, урожайность, белки, фенольные соединения, антоцианы, антиоксидантная активность

Цитирование: Румянцева Н.И., Валиева А.И., Акулов А.Н., Асхадуллин Дан.Ф., Асхадуллин Дам.Ф., Василова Н.З. Влияние засухи и высоких температур на урожайность и качество зерна фиолетовозерных линий яровой мягкой пшеницы // *Biomics*. 2021. Т.13(3). С.254-273. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2021-17

© Авторы

DROUGHT AND HIGH TEMPERATURES EFFECT ON YIELD AND GRAIN QUALITY OF PURPLE-GRAIN LINES OF SPRING SOFT WHEAT

Rumyantseva N.I.¹, Valieva A.I.¹, Akulov A.N.¹, Askhadullin D-I. F.², Askhadullin D-r. F.², Vasilova N.Z.²

¹Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, Kazan Scientific Center, Russian Academy of Sciences, Kazan, 420111, Russia; E-mail: nat_rumyantseva@mail.ru, valievalfiya@mail.ru

²Tatar Scientific Research Institute of Agriculture, Kazan Scientific Center, Russian Academy of Sciences, Kazan, 420059, Russia

Resume

This paper was aimed at the impact of drought and high temperatures on the main stages of plant development, yield, grain protein content (GPC) and its composition as well as content of phenolic compounds (PC) and anthocyanins (AC), and antioxidant activity (AOA) of grain of two purple-grained lines (163 and 193) and drought-resistant white-grained cultivar (cv.) Khazine of soft spring wheat (*Triticum aestivum* L.) in growing seasons of 2015-2018 years. It has been shown that the impact of drought and high temperatures on the wheat yield is complex and depends on genotype resistance, on the strength/duration of stress factor action, and on the stage of plant reproductive development. The periods of sensitivity were booting, heading, flowering, and milky ripening. In 2018, prolonged exposure to high temperatures and drought, from the stage of booting to the milky ripening stage, led to a decrease in the yield of all genotypes, and also contributed to an increase in the Kjeldahl protein content and the fraction of non-extractable proteins in the grain. In 2016, drought during the reproductive period and high temperatures at the stage of milk ripening turned out to be more favorable for the formation of the yield compared to the weather conditions in 2018, they contributed to an increase in the fraction of non-extractable proteins in Khazine grain, but a decrease in the content of non-extractable proteins in the grain of purple wheat lines. A decrease in the weight of 1000 grains under drought conditions was observed only for line 163. It was shown that purple wheat lines did not differ significantly from the cv. Khazine in the total PC content, but they had a higher AOA, probably due to presence of ACs. Drought caused a decreased PC and AC content in the grain of line 163, but an increased PC and AC content in line 193, which correlated with decreasing or increasing of AOA. It was shown that purple lines have different resistance to drought, which, can be explained by the ability to activate biosynthesis of PC and, particularly, ACs with high AOA in response to impact of stressors.

Keywords: *Triticum aestivum*, purple-grained wheat, drought, high temperatures, yield, proteins, phenolics, anthocyanins, antioxidant activity

Citation: Rumyantseva N.I., Valieva A.I., Akulov A.N., Askhadullin D-I. F., Askhadullin D-r. F., Vasilova N.Z. Drought and high temperatures effect on yield and grain quality of purple-grain lines of spring soft wheat. *Biomics*. 2021. V.13(3). P.254-273. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2021-17

© Authors

Введение

В естественных условиях на растения всегда действуют не один, а множество стрессовых факторов. В Центрально-европейской части России длительный период повышенных температур воздуха, как правило, коррелирует с увеличением инсоляции и почвенной засухой, а выпадение значительного количества осадков обычно сопровождается понижением температуры и накоплением влаги в почве. Засуха и высокие температуры являются наиболее сильными стрессовыми факторами, влияющими на урожайность пшеницы [Barnabás et al., 2008]. Неблагоприятное действие засухи и высоких температур особенно ощутимо в периоды макро- и микроспорогенеза и налива зерна, что

приводит к снижению двух основных компонентов урожайности – количеству зерен и размеров зерна [Barnabás et al., 2008]. Резкая смена погодных условий и, соответственно, изменение спектра действующих стрессовых факторов могут происходить даже в условиях одного вегетационного сезона. В связи с этим в последнее десятилетие основным направлением в селекции яровой мягкой пшеницы является создание сортов, сильных по качеству зерна и, одновременно, экологически пластичных, способных устойчиво формировать высокую урожайность при действии неблагоприятных температур и засухи.

Качество зерна пшеницы зависит от содержания крахмала и белков, в первую очередь, запасных белков

эндосперма пшеницы – глиадинов и глютелинов [Shewry et al., 2009], а их состав и соотношение определяются как генетическими характеристиками сорта, так и условиями окружающей среды в течение всего вегетационного периода [Dupont, Altenbach, 2003; Yang et al., 2011]. Известно, что засуха и высокие температуры могут оказывать значительное влияние на содержание и состав запасных белков зерна пшеницы [Sehgal et al., 2018]. В зерне пшеницы помимо крахмала и белков содержатся также минорные компоненты, функции которых еще недостаточно изучены. Одним из классов минорных компонентов являются фенольные соединения (ФС), содержание которых в зерне не превышает 0.5%, при этом употребление пищи, содержащей ФС, такой как цельное зерно злаков, способствует профилактике сердечно-сосудистых, метаболических и онкологических заболеваний [Fardet, 2010]. В последнее время в качестве мирового тренда в селекции злаков востребовано производство сортов с окрашенным зерном [Lachman et al., 2017, Полонский и др. (Polonskiy et al.), 2018]. Окраска зерна зависит от присутствия в оболочках плодов проантоцианидинов и антоцианов (АЦ), в случае фиолетовозерных сортов окраску зерну придают АЦ, локализованные в перикарпии [Lachman et al., 2017]. АЦ обладают высокой антиоксидантной активностью (АОА), поэтому фиолетовозерные сорта пшеницы используются как дешевый источник антиоксидантов для производства функциональных продуктов питания из цельного зерна. Следует отметить, что локализация ФС в оболочках зерна может свидетельствовать о защитной роли этих соединений для зародыша и эндосперма [Kim et al., 2006].

Известно, что многие абиотические воздействия, в том числе засуха, высокие и низкие температуры, вызывают у растений активацию биосинтеза различных классов ФС, которые защищают белки и липиды клеток от окислительных модификаций и разрушения, вызванных избытком образования активных форм кислорода (АФК) при стрессе [Sharma et al., 2019]. Хотя состав ФС зерна как белозерных, так и фиолетовозерных сортов пшеницы изучен достаточно полно [Žilić, 2016], влияние абиотических стрессоров на содержание ФС в зерне пшеницы изучено слабо. Показано, что длительное воздействие температуры 25-30°C на стадии налива зерна вызывает увеличение содержания фенольных кислот и флавоноидов в зерне пшеницы [Shamloo et al., 2017]. Влияние засухи на вариативность состава ФС и АЦ в зерне фиолетовозерных сортов пшеницы изучено лишь в нескольких работах [Abdel-Aal et al., 2016; Hosseinian et al., 2008; Li et al., 2018a]. Нам не известны исследования по влиянию засухи и высоких температур на

содержание и состав запасных белков у фиолетовозерных сортов и линий пшеницы.

В данной работе была проведена комплексная оценка влияния засухи и высоких температур (2015-2018 гг.) на прохождение основных фаз вегетации, показатели продуктивности, а также содержание и состав белков, содержание ФС, АЦ и АОА зерна двух фиолетовозерных линий пшеницы и засухоустойчивого сорта Хазинэ.

Материалы и методы

В качестве объектов исследования были выбраны две фиолетовозерные линии Кк-163-08-4 и Кк-193-08-1 и белозерный сорт Хазинэ яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) селекции Татарского НИИСХ ФИЦ КазНЦ РАН. Ранее проведенный анализ сортов яровой мягкой пшеницы выявил, что сорт Хазинэ имел стабильную урожайность в условиях засухи и высоких температур [Василова и др. (Vasilova et al.), 2019]. Линия Кк-163-08-4 (далее по тексту линия 163) была получена от скрещивания линии Л-22-95 (*T. aestivum* var. *vigorovii*) с красnozерным сортом Kommissar (*T. aestivum* var. *lutescens*), линия Кк-193-08-1 (далее по тексту – линия 193) – от скрещивания линии Л-13-95 (*T. aestivum* var. *vigorovii*) с сортом Kommissar. Фиолетовозерные линии Л-22-95 и Л-13-95 были предоставлены академиком В.А. Зыкиным (СибНИИСХ) в 2007 г. Зерновки линий 163 и 193 имели фиолетовую окраску перикарпия (рис. 1).

Опытные образцы высевали на полях селекционного севооборота Татарского НИИСХ, расположенных в Предкамской зоне Республики Татарстан (55.63 с.ш., 49.31 в.д.). Почва – серая лесная, хорошо окультуренная, типичная для зоны. Посев проводили селекционной сеялкой ССФК-7 в четырехкратной повторности, площадь делянки 25 м². Опыт был заложен систематическим методом с шахматным размещением по повторениям. Под предпосевную культивацию вносили фоновые минеральные удобрения (100 кг/га аммиачной селитры, 250 кг/га азофоски с дозировкой N:P:K 16:16:16).

Данные по метеорологическим условиям (температура и осадки) были предоставлены метеостанцией ТатНИИСХ. Среднегодовое значение температур и выпавших осадков были рассчитаны за 30-летний период (1976-2006 гг.). Гидротермический коэффициент увлажнения (ГТК) определяли по формуле Г.Т. Селянинова $K=R \cdot 10 / \sum t$, где R- сумма осадков (мм) за период с температурой выше 10°C, $\sum t$ – сумма температур в градусах в тот же период времени.



Рис. 1. Зерновки фиолетовозерных линий и белозерного сорта Хазинэ мягкой яровой пшеницы 2017 г. урожая: а – линия 193, б – линия 163, в - сорт Хазинэ.

Fig. 1. 2017 year yield grains of soft spring wheat of purple-grained lines and white-grained cv. Khazine. From left to right: line 193, line 163, cv. Khazine.

Вес тысячи зерен определяли по ГОСТ 10842-89, содержание белка по Кьельдалю – по ГОСТ 10846-91. Для получения цельнозерновой муки зерновки размалывали на шаровой мельнице (Retsch MM400, Германия) при частоте 25 Гц в течение 3 мин.

Для получения фракции альбуминов 100 мг цельнозерновой муки инкубировали с 1 мл MilliQ, содержащей 0.1 мкМ фенилметилсульфонил фторида (ФМСФ), при 6°C в течение 30 мин, центрифугировали при 3000 g 10 мин, осадок отмывали 0.5 мл MilliQ, супернатанты объединяли. Для получения фракции глобулинов к осадку добавляли 1 мл 10% NaCl, содержащий 0.1 мкМ ФМСФ, инкубировали при 6°C в течение 30 мин центрифугировали при 3000 g 10 мин, осадок отмывали 0.5 мл 10% NaCl, супернатанты объединяли. Для получения фракции глиадинов к осадку добавляли 1 мл 70% этанола, инкубировали на водяной бане при 36°C в течение 30 мин, центрифугировали при 3000 g 10 мин, осадок отмывали 0.5 мл 70% этанола, супернатанты объединяли. Для выделения фракции глютенинов осадок инкубировали с 1 мл 0.1% NaOH, на водяной бане при 36°C в течение 30 мин, центрифугировали при 3000 g 10 мин, осадок отмывали 0.5 мл 0.1% NaOH, супернатанты объединяли. Содержание белка во фракциях определяли по методу Лоури [Lowry et al., 1951].

Для выделения ФС 100 мг цельнозерновой муки заливали 1 мл подкисленного 60% этанола (конечная концентрация HCl 1%) и обрабатывали ультразвуком (УЗ) (10 мин, 30 кГц, 20°C), а затем инкубировали в течение 24 ч. при 4°C. Гомогенат центрифугировали (10 мин, 10000 g), супернатант отбирали, к осадку добавляли 0.25 мл 60% подкисленного этанола, обрабатывали УЗ, центрифугировали, выделение повторяли еще раз. Объединенные супернатанты использовали для определения содержания ФС, АЦ и АОА на спектрофотометре LAMBDA 25 (PerkinElmer, США). Содержание ФС в экстракте определяли спектрофотометрически по методу Фолина-Чокальтеу

[Folin, Ciocalteu, 1927] и выражали в мг-экв. галловой кислоты на 1 г сухого веса. Содержание АЦ определяли по оптической плотности экстракта при 525 нм, используя калибровочную кривую, построенную по цианидин 3-О-глюкозиду, и выражали в мг-экв. цианидин-3-О-глюкозида на 1 г сухого веса.

АОА экстракта определяли спектрофотометрически [Brand-Williams et al., 1995]. К 60 мкл экстракта последовательно добавляли 440 мкл 80% метанола, а затем 500 мкл 0.2 mMДФПГ (2,2-дифенил-1-пикрилгидрозил, AlfaAestar, США), растворенного в 80% метаноле. Оптическую плотность измеряли через 30 мин при 517 нм. АОА экстракта определяли с помощью калибровочной кривой, построенной по показаниям оптической плотности продуктов реакции водорастворимого витамина Е (Trolox, Acros, США) и свободного стабильного радикала ДФПГ. Процент ингибирования ДФПГ для образца и построения калибровочной кривой рассчитывали по формуле: % ингибирования ДФПГ = $100 (D_k - D_o) / D_k$, где D_k – оптическая плотность в отсутствие антиоксидантов (контроль), D_o – оптическая плотность в присутствии антиоксидантов. АОА экстракта выражали в ммоль-экв. Trolox на 1 г сухого веса.

Разделение АЦ проводили методом обращенно-фазовой ВЭЖХ (ОФ-ВЭЖХ) на хроматографической системе Breeze (Waters, США). Была использована колонка Symmetry C18 (150 x 3.9 мм, 5 мкм). В качестве подвижной фазы были использованы следующие растворы: раствор А – 10% уксусная кислота, раствор Б – ацетонитрил: вода: ледяная уксусная кислота (10:9:1, об/об). Разделение проводили по следующей программе: 5 мин – 100% раствор А, 10 мин – 25% раствор Б, 10 мин – 50% раствор Б. Скорость потока 0.5 мл/мин. Объем вводимой пробы 20 мкл. Детекцию проводили при 525 нм. Идентификацию пиков выполняли, используя в качестве стандартов цианидин-3-глюкозид и цианидин (Sigma-Aldrich, США). Для расчетов использовали значения площадей пиков полученных хроматограмм, выраженные в мкВ·сек.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы SigmaPlot методами одно- и двухфакторного дисперсионного анализа (ANOVA). Исследования были проведены в трех биологических повторностях для зерна каждого года урожая. Данные представлены в виде среднего значения ± стандартная ошибка. Значимость отличий определяли, используя критерий Тьюки для множественных сравнений при уровне $P \leq 0.05$.

Результаты и их обсуждение

Особенности погодных условий вегетационных сезонов в 2015-2018 гг.

Согласно данным учета погодных условий в 2015 г., начиная с мая по третью декаду июня, дневные

температуры были выше среднееголетних, но испарение воды компенсировалось выпадением осадков. Третья декада июня была аномально жаркой с дневными температурами, доходящими до 35°C (из 10 дней только один день температура была ниже 30°C) и почти полным отсутствием осадков (рис. 2а, б; рис. 3а, б). Начиная с июля, средние значения температуры (рис. 2а) по декадам незначительно отличались от среднееголетних значений, а суммы выпавших в июле осадков были даже выше среднееголетних значений (рис. 2б). В целом, осадки в течение сезона (208 мм) были распределены достаточно равномерно, и значение ГТК вегетационного периода составило 1.1, что является благоприятным для умеренных широт и соответствует зоне обеспеченного увлажнения.

В 2016 г. значения дневной температуры были выше среднееголетних весь вегетационный период (за исключением 2-ой декады мая и 1-ой декады июня) (рис. 2а), а общее количество осадков было ниже среднееголетних в 2.2 раза (81 мм). Значение ГТК вегетационного периода 2016 г. было равным 0.4, что соответствует засушливой зоне. Начиная со второй декады июня, осадки были незначительными, а

температуры – выше среднееголетних (выше 25°C, но ниже 30°C), что вызвало почвенную засуху. В III декаде июля и начале I декады августа дневные температуры превышали 30°C, и осадки почти полностью отсутствовали.

В 2017 г. средние температуры по декадам до середины июля держались ниже среднееголетних значений (рис. 2а), а количество выпавших осадков в первую половину вегетационного периода было сравнимо со среднееголетними значениями (рис. 2б). Со второй половины июля значения дневных температур были незначительно выше среднееголетних, но ночные температуры (особенно во второй декаде августа) могли снижаться до 10°C и ниже. Во второй половине вегетационного периода осадки были распределены неравномерно: в начале июля прошли сильные ливни, а со второй декады июля до конца августа количество осадков было меньше среднееголетних значений (рис. 2б), что компенсировало избыточное увлажнение, возникшее в первой декаде июля. Показатели ГТК (1.0) и сумма осадков (180 мм) свидетельствуют о достаточной увлажненности в вегетационный период 2017 г.

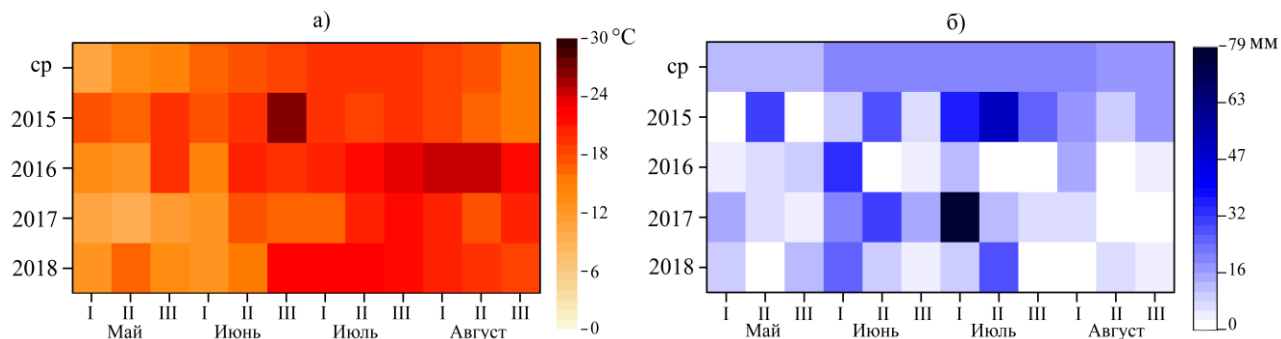


Рис. 2. Тепловые карты среднесуточных температур (а) и количества выпавших осадков (б) по декадам в течение вегетационного периода мягкой яровой пшеницы в 2015-2018 гг. Среднееголетние значения (ср) среднесуточных температур представлены за период 1976-2006 гг.

Fig. 2. Heat maps of average daily air temperatures (*left*) and rainfall (*right*) by decade during the growing season of soft spring wheat in 2015-2018. The average annual values (*upper rows*) of average daily temperatures are presented for the period 1976-2006.

В 2018 г. в первой половине вегетационного периода значения температур воздуха были сравнимыми со среднееголетними значениями, а во вторую половину – значительно выше среднееголетних значений (рис. 2а). Следует отметить, что, начиная с III декады июня до II декады августа включительно, значения дневных температур по несколько дней подряд были 30°C и выше (рис. 3 г). В течение вегетационного периода 2018 г. осадки выпадали в недостаточном количестве и неравномерно: основной объем осадков пришелся на первую декаду июня и на вторую декаду июля (рис. 2б). ГТК периода был равен

0.5, что соответствует засушливой зоне.

Таким образом, вегетационные периоды 2015-2018 гг. отличались контрастными погодными условиями: 2015 г. – достаточно влажный и теплый, 2016 и 2018 гг. – засушливые, причем, в 2018 г. засуха сочеталась с высокими дневными температурами, а 2017 г. – достаточно влажный с умеренными значениями температуры воздуха. При этом в 2015, 2016 и 2018 гг. были отмечены дневные температуры 30°C и выше: в 2015 г. в течение одной декады, в 2016 г. – в течение двух декад, в 2018 г. – в течение пяти декад (рис.3).

Зерно фиолетовозерной пшеницы при стрессе

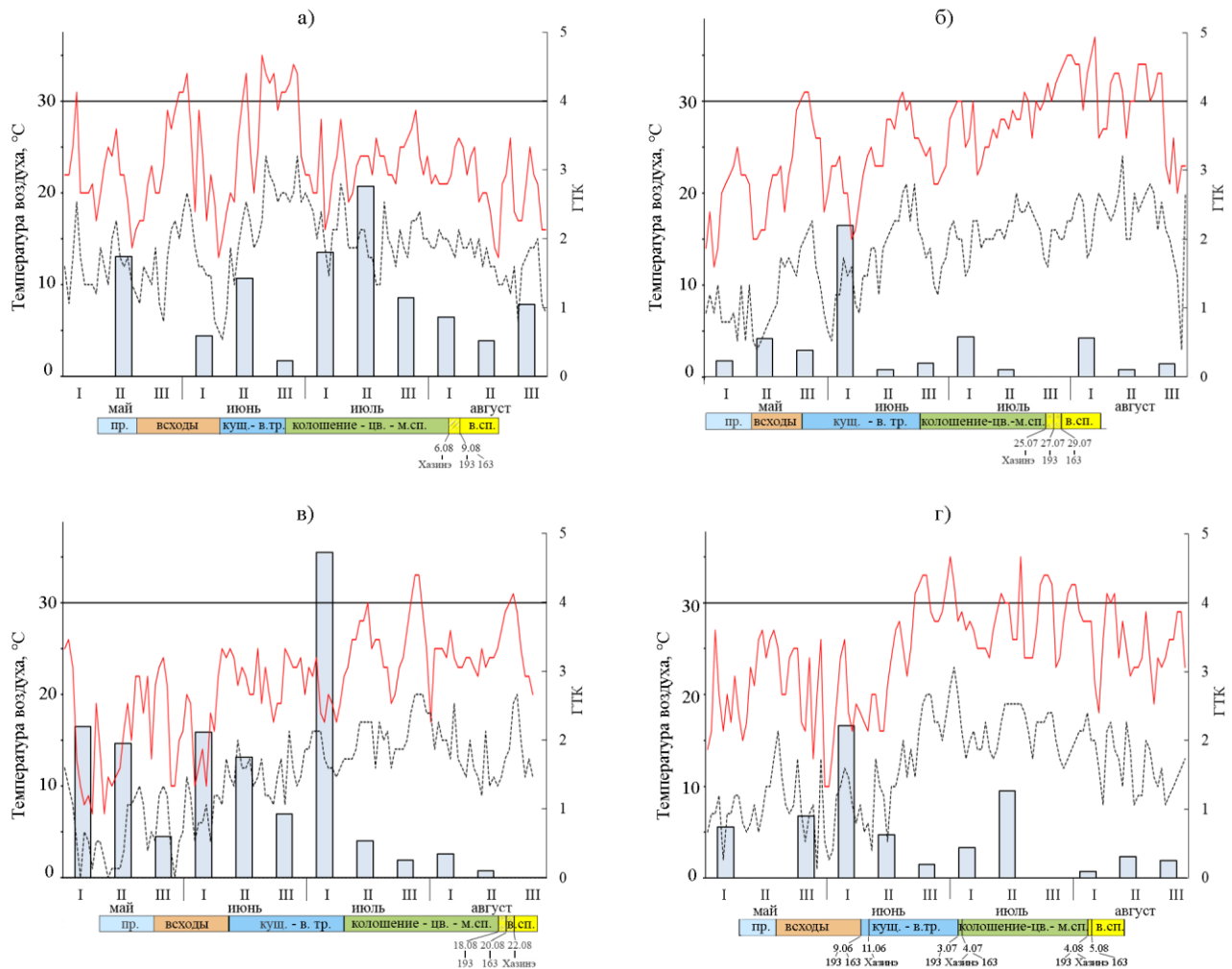


Рис. 3. Динамика дневных и ночных температур и количества выпавших осадков по декадам и продолжительность фенофаз у растений мягкой яровой пшеницы в течение вегетационных периодов в 2015 (а), 2016 (б), 2017 (в), 2018 (г) гг. Показатели ГТК представлены в виде столбцов, показатели максимальной дневной (1) и минимальной ночной (2) температуры – в виде кривых (отмечены красным и черным цветом, соответственно); продолжительность фенофаз – в виде полос под осью абсцисс (слева направо): прорастание (пр.), всходы, кушение (куш.) – выход в трубку (в.тр.), колошение - цветение (цв.) - молочная спелость (м.сп.), восковая спелость (в.сп.). Даты под шкалой фенофаз означают начало вегетационных фаз у исследуемых генотипов при их отличии.

Fig. 3. Dynamics of day and nighttime temperatures per decade and the duration of phenophases of soft spring wheat in 2015 (upper, left), 2016 (upper, right), 2017 (lower, left), 2018 (lower, right). Hydrothermal indices are presented as the columns, the values of maximum daytime (1) and minimum nighttime (2) temperature - as curves (marked with red and black, respectively); the duration of phenophases as bands under the abscissa axis (from left to right): germination, seedling, tillering–booting, heading–anthesis–milky ripe ripening, kernel hard ripening. The dates under the phenophases scale indicate the beginning of the phase in the studied genotypes in case they differ from each other.

Влияние погодных условий на основные фазы вегетации и продуктивные показатели урожая яровой мягкой пшеницы в 2015-2018 гг.

Условия окружающей среды влияют на темпы развития растений, приводя к изменению длины фенологических фаз и продолжительности вегетационного периода. Такие факторы как высокая температура воздуха и засуха затрагивают почти все физиологические процессы в растениях пшеницы: фотосинтез и транспорт ассимилятов, развитие корневой системы, микро- и макроспорогенез, процессы опыления и оплодотворения, отражаясь на количестве зерен в колосе, наливе зерна и, в конечном счете, урожайности [Barnabás et al., 2008].

Таблица.

Продолжительность репродуктивного периода (в днях от фазы полного колошения до наступления фазы восковой спелости) мягкой яровой пшеницы в 2015-2018 гг.

Table. Duration of the reproductive period (in days from the late booting stage to the kernel hard stage) of soft spring wheat in 2015-2018

Линия / сорт Line / cultivair	Год / Year			
	2015	2016	2017	2018
193	41	36	40	32
163	41	36	42	32
Хазинэ / Khazine	38	33	44	33

В 2015 г. продолжительность репродуктивного периода (от фазы полного колошения до наступления фазы восковой спелости) у сорта Хазинэ составила 38 дней, а у фиолетовозерных линий - 41 день (табл.). При этом трубкование и колошение растений пришлось на резкое увеличение дневной температуры (рис. 3а). Урожайность сорта Хазинэ в 2015 г. была выше, чем у линий 193 и 163 на 0.7 и 0.9 т/га, соответственно (рис. 4а). Важно отметить, что только в 2015 году урожайность сорта Хазинэ статистически достоверно превышала урожайность фиолетовозерных линий.

В 2016 г. растения испытывали дефицит влаги и действие высоких температур, начиная со стадии всходов (рис. 3б). Начало фазы кущения пришлось на благоприятный период, когда выпали осадки, а дневные температуры были близкими к среднегодовым, что способствовало развитию вторичной корневой системы у растений. Продолжительность репродуктивного периода в 2016 г. составила 33 дня у сорта Хазинэ и 36 дней у фиолетовозерных линий (табл.). Фенофазы вегетации в 2016 г. прошли значительно быстрее по сравнению с 2015 и 2017 гг. (на 5 и 11 дней) (рис. 3). Известно, что засуха ускоряет прохождение всех фаз развития у пшеницы [Barnabás et al., 2008]. Следует отметить, что температуры выше 30°C пришлось на стадию молочной спелости у

фиолетовозерных линий и стадию восковой спелости у сорта Хазинэ и продолжались до полного созревания зерна. В 2016 г. урожайность трех исследованных генотипов не имела статистически достоверных различий и составляла 4.8- 4.96 т/га (рис. 4а).

В 2017 г. пониженные температуры, наблюдаемые до II декады июля, удлинляли прохождение фенофаз по сравнению с 2015, 2016 и 2018 гг. (рис. 3а, рис.3б, рис.3в, рис.3г). Продолжительность периода от колошения до восковой спелости у линии 193 составила 40 дней, а у линии 163 и сорта Хазинэ – 42 и 44 дня, соответственно (табл.). Погодные условия были оптимальными для образования продуктивного стеблестоя у фиолетовозерных линий пшеницы, у которых сформировалось в среднем 1.24 колосоносных стебля на растение, тогда как у сорта Хазинэ – 1.09. В фазу колошения и цветения значения температур стабилизировались на уровне среднегодовых при достаточной для данного периода увлажненности и благоприятствовали наливу зерна. Погодные условия 2017 г. были наиболее благоприятны для развития фиолетовозерных линий. Растения фиолетовозерных линий быстрее, чем сорт Хазинэ перешли к стадии восковой спелости, при этом урожайность линии 163 значительно превысила урожайность не только линии 193, но и сорта Хазинэ (на 0.42 и 0.57 т/га, соответственно) (рис. 4а). В 2017 г. урожайность линии 163 (5.39 т/га) превосходила максимально наблюдаемое значение урожайности сорта Хазинэ в 2015 г. (5.13 т/га) (рис. 4а).

В 2018 г. в первые две декады июня температура воздуха была ниже среднегодовых значений на 2-3°C, что способствовало удлинению фазы всходов и кущения, однако с конца июня в течение пяти декад, включая фазы выхода в трубку – колошения - цветения и налива зерна, она была выше среднегодовых значений на 3-4°C. Преимущественно, средние значения дневной температуры по декадам составляли около 25°C, но в отдельные дни (по два-три дня в каждой декаде с конца июня до августа) температура была выше 30°C. На фазы выхода в трубку – колошения - цветения пришлось самые высокие температуры и засуха (рис. 3г). Незначительные осадки выпали только на стадии налива зерна. Продолжительность репродуктивного периода у фиолетовозерных линий составила 32 дня, у сорта Хазинэ – 33 дня (табл.). Урожайность фиолетовозерных линий в 2015 и 2018 гг. была ниже по сравнению с 2016 и 2017 гг. (рис. 4а). Снижение урожайности сорта Хазинэ было отмечено только в 2018 г. (рис. 4а). Таким образом, погодные условия 2018 г. были наименее благоприятными для формирования урожая у всех исследованных генотипов пшеницы.

Зерно фиолетовозерной пшеницы при стрессе

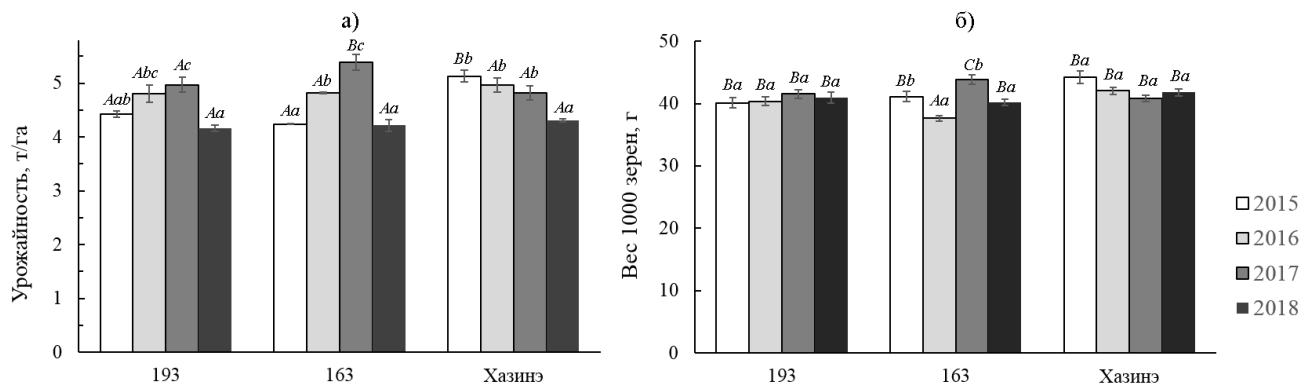


Рис. 4. Урожайность и вес тысячи зерен мягкой яровой пшеницы в 2015-2018 гг. *Примечание: Разные буквы латинского алфавита означают достоверную разницу между показателями при $P \leq 0.05$. Прописные буквы обозначают разницу между генотипами одного года урожая, строчные буквы – разницу между годами для одного генотипа.*

Fig. 4. Yield and thousand grain weight of soft spring wheat in 2015-2018. *Different letters above the bars mean significant difference at $P \leq 0.05$. Capital letters mean difference between genotypes for the same year, small letters – the difference between years for one genotype.*

Анализ длительности репродуктивного периода изученных генотипов пшеницы показывает, что в жаркие и засушливые годы (2016 и 2018 гг.) он был короче по сравнению с другими годами как у сорта Хазинэ, так и у фиолетовозерных линий (табл.). Увеличение длительности репродуктивного периода, характерное для всех генотипов в 2017 г., и, особенно, для сорта Хазинэ, сопровождалось незначительным снижением урожайности по сравнению с 2016 г. у сорта Хазинэ и незначительным увеличением урожайности у линии 193, тогда как у линии 163 урожайность в 2017 г. была рекордно высокой. Репродуктивный период в 2017 г. у сорта Хазинэ был длиннее на 2-4 дня, чем у фиолетовозерных линий, но в 2015 г. он был короче, чем у фиолетовозерных линий на 6 дней. Наибольшая урожайность была отмечена у фиолетовозерных линий в 2017 г., а у сорта Хазинэ - в 2015 г. Установлено, что высокие, не стрессовые температуры (до 30°C) во время налива зерна могут оказывать на разные генотипы разное воздействие: у одних – ускорять налив зерна, способствуя активации синтетических процессов, у других, наоборот, подавлять процессы фотосинтеза и транспорта ассимилятов [Sehgal et al., 2018]. Известно, что у жаростойких сортов при высоких, но не стрессовых температурах скорость созревания зерна выше, чем у сортов, предпочитающих умеренные температуры, у них активируются процессы синтеза крахмала, позволяющие накопить его в нужном количестве за более короткий период [Dupont, Altenbach, 2003]. Напротив, у сортов, адаптированных к

произрастанию в умеренных широтах, температура 15-20°C в период налива зерна положительно влияет на накопление крахмала и белка, способствуя повышению урожайности [Dupont, Altenbach, 2003]. Вероятно, ферменты сорта Хазинэ «заточены» на более высокие температуры по сравнению с ферментами фиолетовозерных линий, поэтому сорт Хазинэ имеет более короткий репродуктивный период и большую урожайность в теплые годы, т.е. более адаптирован к высоким температурам по сравнению с фиолетовозерными линиями, предпочитающими умеренные температуры.

В засушливом 2016 г. урожайность у всех генотипов была одинаковой. Таким образом, изучаемые фиолетовозерные линии так же как и сорт Хазинэ проявляли устойчивость к засухе. Известно, что высокие температуры и засуха в период налива зерна вызывают нарушение притока ассимилятов, и, в первую очередь, нарушение биосинтеза крахмала, в результате чего происходит уменьшение размеров зерна, зерно становится щуплым, вес 1000 зерен снижается [Barnabás et al., 2008; Kumar et al., 2019; Talukder et al., 2014]. Снижение веса 1000 зерен у фиолетовозерной пшеницы было показано в условиях моделирования засухи [Li et al., 2018a, 2020]. Выполненные нами исследования позволяют предположить, что линия 193, так же как и сорт Хазинэ, имеют большую устойчивость к засухе и высоким температурам по сравнению с линией 163, поскольку их зерно не мельчало в 2016 и 2018 гг. Значение веса 1000 зерен достоверно изменялось только

у линии 163 (рис. 4б). При этом вес 1000 зерен был ниже в 2016 г. по сравнению с 2018 г. Вероятно, это можно объяснить тем, что в 2016 г. на налив зерна пришлось температуры выше 30°C и засуха, а в 2018 г. в этот же период высокие температуры сопровождались незначительными осадками (рис. 4б, г), которые в фазу налива зерна могут стимулировать биосинтез крахмала. Однако зерно линии 163 в 2016 и 2018 гг. не было щуплым, оно было хорошо выполненным: длина зерна почти не изменялась, но уменьшалась ширина и незначительно толщина зерна, поэтому на срезе зерно было почти круглым, тогда как зерно линии 193 и сорта Хазинэ оставалось уплощенным. Кипо и соавт. [Kipo et al., 2020] было установлено, что высокие температуры приводят к более ранней экспрессии генов, вовлеченных в биосинтез кутикулы зерна, но подавляют экспрессию генов, вовлеченных в модификацию и растяжение клеточных стенок перикарпия. Это может вызвать преждевременное снижение пластичности наружных слоев перикарпия и способствовать физическому ограничению роста эндосперма и уменьшению веса 1000 зерен. Тем не менее, наши результаты показывают, что уменьшение размеров зерна и веса 1000 зерен не являются причинами, приводящими к снижению урожайности, т.к. урожайность линии 163 в 2016 г. была выше, чем в 2015 и 2018 гг.

При анализе влияния погодных условий на формирование урожая пшеницы хотелось бы выделить основные факторы, действие которых было критическим для формирования урожая в исследуемые годы. Во-первых, это длительность действия стрессовых факторов. Погодные условия 2016 и 2018 гг. были засушливыми с продолжительными периодами температур выше 30°C, причем, урожайность всех генотипов в 2018 г. была значительно ниже по сравнению с 2016 г. Как правило, засуха в естественных условиях сопровождается повышенными температурами воздуха [Sehgal et al., 2018]. Каждое из воздействий в отдельности приводит к снижению урожайности пшеницы, но совместное действие высоких температур и засухи имеет более выраженный эффект по сравнению с каждым стрессором в отдельности, хотя этот эффект и не всегда аддитивен [Talukder et al., 2014; Balla et al., 2011; Pradhan et al., 2012; Savin, Nicolas, 1996]. В 2018 г. продолжительность совместного действия засухи и высоких температур составила около пяти декад, тогда как в 2016 г.- только две декады. Во-вторых, негативное влияние высоких температур и засухи на урожайность мягкой яровой пшеницы сильно зависит от того, на какой фенотипической онтогенеза растений это воздействие произошло. Parent и соавторы [2017], изучая в полевых,

полуконтролируемых условиях влияние засухи и сверхвысоких температур на формирование урожая у яровой мягкой пшеницы, пришли к выводу, что периоды чувствительности к стрессорам можно обнаружить задолго до начала цветения и вплоть до стадии полного созревания плодов. При этом воздействие определенного стрессора может быть стадиейспецифичным, т.е. оказывать большее влияние на формирование урожая при воздействии на определенной стадии развития. При воздействии на стадиях, предшествующих цветению (трубкование, колошение), нарушается дифференцировка колосков в колосе, на стадии цветения – гаметогенез и оплодотворение, развитие зародышей, на стадии налива зерна - размер и вес зерна. Стресс на стадиях трубкования - опыления приводит к уменьшению количества зерен, на стадии налива зерна - к уменьшению веса 1000 зерен. По мнению Sanad и соавторов [2016] воздействие засухи на стадии трубкования и цветения оказывает наиболее губительное действие на формирование зерна у пшеницы. В 2018 г. стрессовые температуры (выше 30°C) и засуха пришлось на все «чувствительные» стадии развития растений - от трубкования до налива зерна. Засушливый вегетационный сезон 2016 г., в целом, был благоприятным для прохождения фаз трубкования и колошения для всех генотипов, поскольку в почве на тот период было достаточно влаги, а средние дневные температуры были около 25°C. Период совместного действия засухи и высоких температур в 2016 г. пришелся на конец налива зерна, это воздействие привело к уменьшению веса 1000 зерен только у линии 163. Таким образом, значительное снижение урожайности всех изученных генотипов, в том числе и сорта Хазинэ, в 2018 г. по сравнению с 2016 г. можно объяснить негативным действием сверхвысоких температур и засухи сразу на несколько наиболее «чувствительных» фаз развития растений, что вызвало нарушения в формировании колосков в колосе, образовании цветков, гаметогенезе, опылении и развитии зародышей.

Известно, что действие высоких (выше 30°C) температур даже при однократном повышении является критическим на стадии колошения до наступления стадии цветения [Saini, Aspinall, 1982; Savin et al., 1999; Talukder et al., 2014]. Установлено, что даже один день воздействия сверхвысоких температур (выше 30°C) на стадии «зеленых» пыльников может вызвать полную стерильность пшеницы [Saini, Aspinall, 1982]. 2015 г. был в целом теплым и достаточно влажным, с погодными условиями, близкими к среднепогодным,

тем не менее, урожайность фиолетовозерных линий была намного ниже, чем у сорта Хазинэ и ниже, чем у этих же линий в засушливом 2016 г. (рис. 4а). В 2015 г., так же как и в 2018 г., резкий скачок дневных температур (за 30°C) и почти полное отсутствие осадков пришлось на конец периода выхода в трубку-колошения (рис. 3а, рис. 3г). Если в 2018 г. период неблагоприятного действия высоких температур и засухи был длительным и составил почти пять декад, то в 2015 г. такой период занял приблизительно одну декаду, поэтому растения жароустойчивого сорта Хазинэ смогли противостоять непродолжительному воздействию сверхвысоких температур, сформировав хороший урожай. У линии 193 урожайность в 2015 г. была ниже, чем в 2017 г., но разница была значительно меньшей, чем для линии 163, у которой урожайность в 2015 г. оказалась на уровне неблагоприятного 2018 г. (рис. 4а). Разница может быть обусловлена тем, что растения сорта Хазинэ и линии 193 являются более жароустойчивыми по сравнению с линией 163. Исходя из данных о резком снижении урожайности линии 163 в 2015 г. можно заключить, что период «чувствительности» к высоким температурам может быть очень непродолжительным, захватывающим всего несколько дней в течение одной фазы. Следует отметить, что влияние коротких по времени (в течение нескольких дней) тепловых стрессоров является малоизученным и исследовано всего в нескольких работах [Saini, Aspinall, 1982; Savin et al., 1999; Talukder et al., 2014; Kaur, Behl, 2010]. Таким образом, нами показано, что формирование урожая фиолетовозерных линий пшеницы, так же как и сорта Хазинэ, зависит не только от устойчивости генотипа к высоким температурам и засухе, но и от силы и продолжительности стрессового воздействия, а также фенотипа, на которую приходится это воздействие.

Влияние погодных условий на содержание белков в зерне пшеницы

Содержание белка является одной из ключевых характеристик качества зерна [Shewry et al., 2009]. Традиционно для оценки общего содержания белка в зерне используют определение содержания азота по Кьельдалю с использованием коэффициента 5.7. Если определить содержание экстрагируемых белков по Лоури, то содержание неэкстрагируемых белков можно оценить по разнице между содержанием белка по Кьельдалю и содержанием экстрагируемых белков. Из рис.5 видно, что содержание белка в трех исследованных генотипах определяется как самим генотипом, так и воздействием погодных условий.

Наибольшее содержание белка выявлено в зерне сорта Хазинэ, а наименьшее - в зерне линии 193. Согласно ГОСТ по содержанию белка линия 163 и сорт Хазинэ могли быть классифицированы как ценная и сильная пшеницы, соответственно, а линия 193 – как слабая пшеница.

Важно отметить, что все генотипы имели характерное для них соотношение неэкстрагируемых/экстрагируемых белков. Неэкстрагируемые белки у яровой мягкой пшеницы представлены главным образом высокомолекулярными глютеинами [Zhu, Khan, 2001], их содержание связано с функциональными свойствами зерна [Shewry et al., 2009]. В зерне линии 193 это соотношение составляло 0.12-0.36, в линии 163 – 0.42-0.68, у сорта Хазинэ – 0.48-0.78. Таким образом, качество зерна пшеницы у исследованных генотипов коррелировало не только с общим содержанием белка, но и с содержанием неэкстрагируемых белков.

Содержание белка по Кьельдалю варьировало в генотипах в зависимости от года. В зерне сорта Хазинэ содержание белка по Кьельдалю было достоверно выше в 2017 и 2018 гг. по сравнению с 2016 и 2015 гг. Для фиолетовозерных линий наибольшее содержание белка по Кьельдалю было отмечено в 2018 г. Показано, что в условиях теплового стресса, засухи и совместного действия засухи и высоких температур активность ключевых ферментов и экспрессия их генов, связанных с превращением сахарозы в крахмал, снижается, что приводит к уменьшению содержания крахмала в зерне [Lu et al., 2019]. Вследствие этого соотношение белок/крахмал увеличивается. Совместное действие засухи и высоких температур оказывает более значительное влияние на снижение содержания крахмала и увеличение содержания белка по сравнению с каждым стрессом в отдельности [Balla et al., 2011; Savin, Nicolas, 1996]. Это объясняет увеличение содержания белка по Кьельдалю у всех исследованных генотипов пшеницы в 2018 г. Высокое содержание белка по Кьельдалю в зерне сорта Хазинэ в 2017 г. может быть обусловлено тем, что оптимум работы ферментов, участвующих в синтезе крахмала, находится у этого сорта в области более высоких температур. Поэтому даже при значительном увеличении продолжительности репродуктивного периода (на 11 дней по сравнению с 2016 г. и на 6 дней по сравнению с 2015 г.) в зерне не успевает синтезироваться достаточное количество крахмала.

Помимо вариабельности в содержании белка по Кьельдалю зерно трех генотипов варьировало по содержанию и составу экстрагируемых белков, а также содержанию неэкстрагируемых белков. В 2016 г.

содержание неэкстрагируемых белков в зерне было ниже у обеих фиолетовозерных линий (особенно в зерне линии 193 – в 2.5 раза) по сравнению с 2017 г., а у сорта Хазинэ, наоборот, содержание неэкстрагируемых белков было выше в 2016 г. и 2018 г. по сравнению с 2015 и 2017 гг. В 2018 г. содержание неэкстрагируемых белков было наибольшим у всех исследуемых генотипов (рис. 5). Протеомный анализ эндосперма пшеницы, выполненный Gu и соавторами [2015] показал, что засуха может стимулировать экспрессию высокомолекулярных глютеинов, тем самым способствуя улучшению хлебопекарных свойств муки. Rangan с соавторами [2020] показали, что при действии высоких температур в жароустойчивом сорте увеличивалось количество транскриптов высокомолекулярных глютеинов, тогда как в неустойчивых сортах такого ответа на тепловой стресс не наблюдалось, количество же транскриптов глиадинов и низкомолекулярных глютеинов увеличивалось как в устойчивом, так и в неустойчивых сортах.

Наибольшая вариабельность в составе экстрагируемых белков была выявлена у линии 193: в 2016 и 2018 гг. альбуминов и глиадинов было больше,

чем в 2017 г. (рис.5). Эти результаты, отчасти, согласуются с данными Zhang и соавт. [2014], которые выявили, что засуха стимулирует синтез альбуминов и глобулинов в зерне пшеницы. У сорта Хазинэ, напротив, содержание глиадинов в зерне 2016 г. снижалось по сравнению с 2015 г. и 2017 г. (рис. 5). Состав экстрагируемых белков зерна линии 163 по годам менялся незначительно и статистически не достоверно в отличие от белков линии 193 и сорта Хазинэ (рис.5).

Таким образом, содержание и состав белка зерна пшеницы в первую очередь определяются генотипом, но засуха и высокие температуры влияют не только на общее содержание белка, но и на состав белков. Длительное воздействие высоких температур и засухи в 2018 г. способствовало увеличению белка по Кьельдалю и фракции неэкстрагируемых белков в зерне всех исследуемых генотипов пшеницы. Действие засухи в 2016 г. не приводило к увеличению содержания белка по Кьельдалю, но способствовало увеличению содержания неэкстрагируемых белков в зерне засухоустойчивого сорта Хазинэ, и уменьшению содержания неэкстрагируемых белков в зерне фиолетовозерных линий.

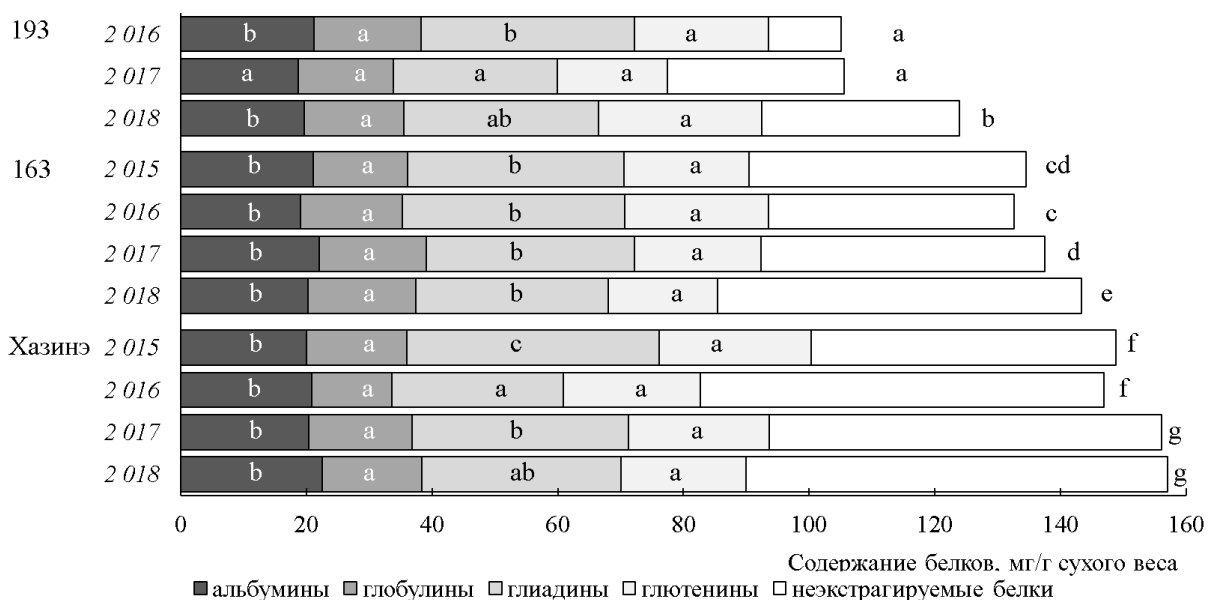


Рис. 5. Содержание экстрагируемых и неэкстрагируемых белков в зерне яровой мягкой пшеницы в 2015-2018 гг. Примечание: Достоверные различия между вариантами ($P \leq 0.05$) отмечены разными буквами латинского алфавита (для каждой фракции – внутри соответствующего столбца). Буквы, расположенные справа за пределами столбцов обозначают достоверные различия по содержанию белка по Кьельдалю.

Fig. 5. Content of extractable and non-extractable proteins in spring wheat grain in 2015-2018. Different letters mean significant difference at $P \leq 0.05$ (for different fractions – inside the corresponding boxes). Letters outside the boxes denote significant difference in GPC measured by Kjeldahl.

Влияние генотипа и погодных условий на содержание фенольных соединений и антоцианов, а также антиоксидантную активность зерна пшеницы

Содержание ФС в зерне пшеницы контролируется генотипом, условиями окружающей среды и их взаимодействием [Abdel-Aal et al., 2016; Li et al., 2018a; Žilić, 2016]. Проведенные нами исследования выявили, что содержание ФС в зерне линии 193 снижалось в 2017 г., но увеличивалось в неблагоприятные 2016 и 2018 гг. (рис. 6а). При этом разница между содержанием ФС в 2016 и 2018 гг. была статистически недостоверной. В зерне линии 163 содержание ФС изменялось противоположно (рис. 6а): в 2016 и 2018 гг. общее содержание растворимых ФС было ниже, чем в 2015 и

2017 гг. Аналогичное влияние засухи на содержание ФС в зерне пшеницы было обнаружено и другими исследователями [Fernandez-Orozco et al., 2010; Heimler et al., 2010]. Отмечена специфичность реакции на засуху в зависимости от генотипа [Fernandez-Orozco et al., 2010; Heimler et al., 2010]. В зерне сорта Хазинэ наибольшее содержание ФС было в 2017 г., а наименьшее – в 2015 г. Между генотипами наибольшее содержание ФС было в зерне линии 193, а наименьшее – у сорта Хазинэ. Однако различия в содержании ФС между фиолетовозерными линиями и сортом Хазинэ не были существенными, например, содержание ФС в зерне линии 163 и сорта Хазинэ в 2016 и 2017 гг. не имело статистически достоверных различий (рис. 6а).

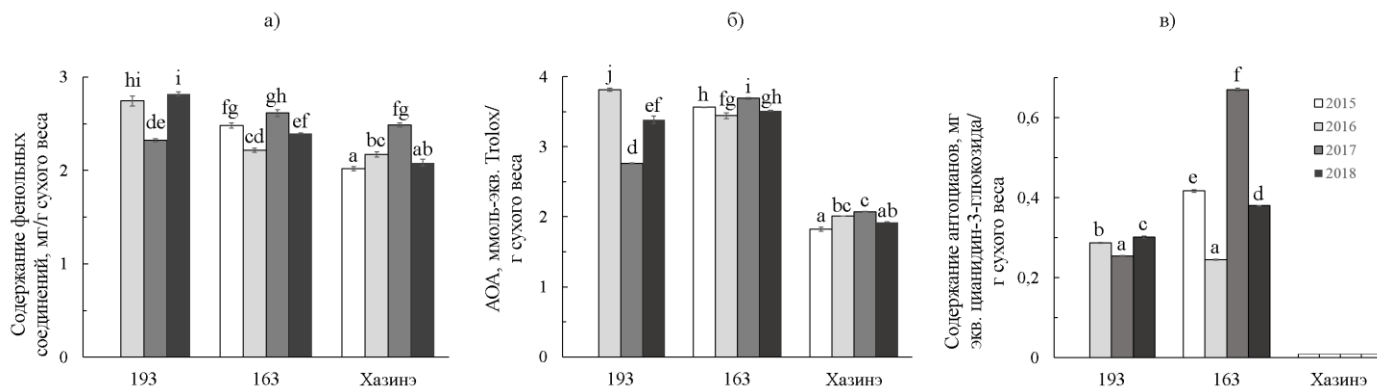


Рис. 6. Содержание ФС, АЦ и АОА этанольных экстрактов зерна яровой мягкой пшеницы в 2015-2018 гг. а – содержание экстрагируемых ФС, выраженное в мг на 1 г сухой массы; б – АОА этанольного экстракта зерна, выраженная в ммоль-экв. Тролох на 1 г сухой массы, в – содержание АЦ, выраженное в мг экв. цианидин-3-глюкозида на г сухой массы. Достоверные различия средних значений ($P \leq 0.05$) отмечены разными буквами латинского алфавита.

Fig. 6. PC content and AOA of ethanol extracts of spring soft wheat grain in 2015-2018. From left to right: content of ethanol-extracted PCs, expressed as mg per 1 g of dry weight; AOA of ethanol extract, expressed as mM-eq. Trolox per 1 g of dry weight; anthocyanins content, expressed as mg-eq. cyaniding-3-glucoside per 1 g of dry weight. Different letters above the bars indicate the reliability of differences in mean values ($P \leq 0.05$).

Тем не менее, значения АОА этанольных экстрактов зерна фиолетовозерных линий были в 1.3-2.1 раза выше, чем у белозерного сорта Хазинэ (рис. 6 б). Эти данные позволяют сделать вывод о том, что ФС сорта Хазинэ обладают меньшей АОА и, соответственно, вносят меньший вклад в АОА этанольных экстрактов зерна по сравнению с ФС фиолетовозерных линий. В литературе отмечается тесная взаимосвязь между окраской, составом ФС и АОА зерна мягкой яровой пшеницы [Beta et al., 2011]. Известно, что ФС зерна белозерных сортов представлены преимущественно свободными и конъюгированными фенольными кислотами, тогда как в состав ФС фиолетовозерных

сортов помимо фенольных кислот входят еще и АЦ, обладающие более высокой АОА по сравнению с фенольными кислотами [Liu et al., 2010]. Поэтому, отчасти, более высокая АОА этанольных экстрактов фиолетовозерных линий могла быть обусловлена АЦ, которые отсутствуют в неокрашенном зерне сорта Хазинэ. Следует отметить, что корреляция между содержанием ФС и АОА была выявлена для обеих фиолетовозерных линий и сорта Хазинэ (рис. 6а, рис.6б).

Флавоноиды, в том числе АЦ, являются неферментативными антиоксидантами, защищающими мембраны клеток от АФК, образуемых при действии засухи, а также высоких и низких температур [Zaidi et al.,

2019]. Погодные условия оказывали значительное влияние на содержание АЦ в зерне линии 163 и слабое влияние на содержание АЦ в линии 193 (рис. 6в). В белозерном сорте Хазинэ АЦ не были обнаружены (рис. 6в). В зависимости от года содержание АЦ в линии 163 варьировало от 0.25 до 0.67 мг/г сухого веса, тогда как в линии 193 - от 0.27 до 0.30 мг/г сухого веса. В целом, динамика содержания АЦ совпадала с динамикой содержания ФС в 2015-2018 гг. Нами показано, что неблагоприятные условия 2016 и 2018 гг. по-разному влияли на накопление ФС, АЦ и АОА зерна двух изученных фиолетовозерных линий. В зерне линии 193 в 2016 и 2018 гг. наблюдали увеличение содержания ФС, АЦ и АОА по сравнению с 2017 г. (рис. 6б, рис. 6в). В зерне линии 163, наоборот, происходило снижение содержания ФС, АЦ и АОА в 2016 и 2018 гг., но увеличение этих показателей в 2015 и 2017 гг. (рис. 6а, рис. 6б, рис. 6в). Причем содержание АЦ в 2017г. было почти в 2 раза больше, чем в 2015 г.

Большинство исследователей склонны выделять защитную роль АЦ, тем не менее, данные по биосинтезу и/или содержанию АЦ при стрессовых воздействиях неоднозначны. Например, при тепловом стрессе отмечается как увеличение содержания АЦ [Hosseinian et al., 2008; Li et al., 2018a], так и уменьшение [Zaidi et al., 2019]. У пшеницы, длительное воздействие температуры 25-30°C на стадии налива зерна вызывает увеличение содержания фенольных кислот и флавоноидов, но приводит к снижению веса 1000 зерен [Shamloo et al., 2017]. Реакция на засуху также может быть специфичной в зависимости от генотипа [Heimler et al., 2010], либо от силы воздействия и продолжительности действия стрессора [Li et al., 2018a]. У *Arabidopsis thaliana* усиление устойчивости к окислительному стрессу и засухе сопровождается гипераккумуляцией АЦ, которые, по мнению авторов, препятствуют потере воды листьями [Nakabayashi et al., 2014]. Ma с соавт. [2014] показали, что в ответ на засуху в листьях пшеницы происходит накопление АЦ, при этом увеличение экспрессии генов флавоноидного метаболизма зависело от генотипа и продолжительности стресса. При умеренном обезвоживании синтез ФС и АЦ в листьях пшеницы усиливался, в то время как сильное обезвоживание приводило к снижению содержания ФС и АЦ, вероятно, вследствие их окислительной деградации [Ma et al., 2014]. Засуха также может оказывать негативное влияние на накопление АЦ, белка и крахмала в зерне фиолетовозерных линий пшеницы [Li et al., 2018a; Li et al., 2020]. Согласно литературным данным, биосинтез и накопление АЦ в зерне приходится на средний и поздний периоды налива зерна, когда активируются

гены, ответственные за биосинтез АЦ и их регуляцию [Li et al., 2018b]. В 2015 г. в этот период дневные температуры были около 23°C с достаточным количеством осадков. В 2016 г. этот период пришелся на наиболее засушливое время с высокими дневными температурами, тогда как в 2018 г. в период налива зерна, несмотря на высокие температуры, отмечали незначительные осадки. Возможно, поэтому в линии 163 снижение содержания ФС и АЦ было более существенным в 2016 г., чем в 2018 г. (рис. 6а, рис. 6в).

В 2017 г. фаза налива зерна пришлось на период благоприятных дневных температур (около 25°C), но достаточно низких (около 10°C) ночных температур, которые могли стимулировать биосинтез АЦ в линии 163 или снизить процессы деградации АЦ в процессе созревания зерна. В работе Kim с соавторами [2017] было показано, что низкая температура 17°C стимулирует синтез антоцианов в проростках *Arabidopsis thaliana* через активацию транскрипционного фактора HY5 (LONG HYPOCOTYL5), который непосредственно связывается с промоторами как ранних, так и поздних генов биосинтеза АЦ. Выращивание проростков в течение 4 сут при 28°C приводило к снижению уровня АЦ почти в 2 раза. Авторы объясняют снижение содержания АЦ тем, что высокая температура запускает деградацию белка HY5 посредством убиквитинлигазы COP1 (CONSTITUTIVE PHOTOMORPHOGENIC1). В свою очередь, деградация HY5 приводит к дерепрессии негативного регулятора биосинтеза АЦ MYB12 и снижению экспрессии как ранних, так и поздних генов биосинтеза АЦ.

Полученные результаты позволяют предположить, что синтез АЦ в зерне двух исследованных фиолетовозерных линий регулируется по-разному. Засушливые условия и высокие температуры активируют синтез АЦ в линии 193, но, вероятно, либо подавляют синтез АЦ, либо способствуют деградации АЦ в зерне линии 163. Напротив, умеренные температуры действовали положительно на биосинтез АЦ в зерне линии 163 (в 2015 г.), а понижение ночных температур в период налива зерна в 2017 г. увеличило накопление АЦ более чем в 2 раза по сравнению с 2016 г. Не исключено, что в двух исследуемых линиях транскрипционные факторы, контролирующие биосинтез АЦ, по-разному регулируются при действии низких и высоких температур. Для генов *R-1*, кодирующих транскрипционные факторы Tamyb10-A1, Tamyb10-B1, Tamyb10-D1, которые контролируют биосинтез флавоноидов у пшеницы, такая регуляция неизвестна [Lachman et al., 2017].

Зерно фиолетовозерной пшеницы при стрессе

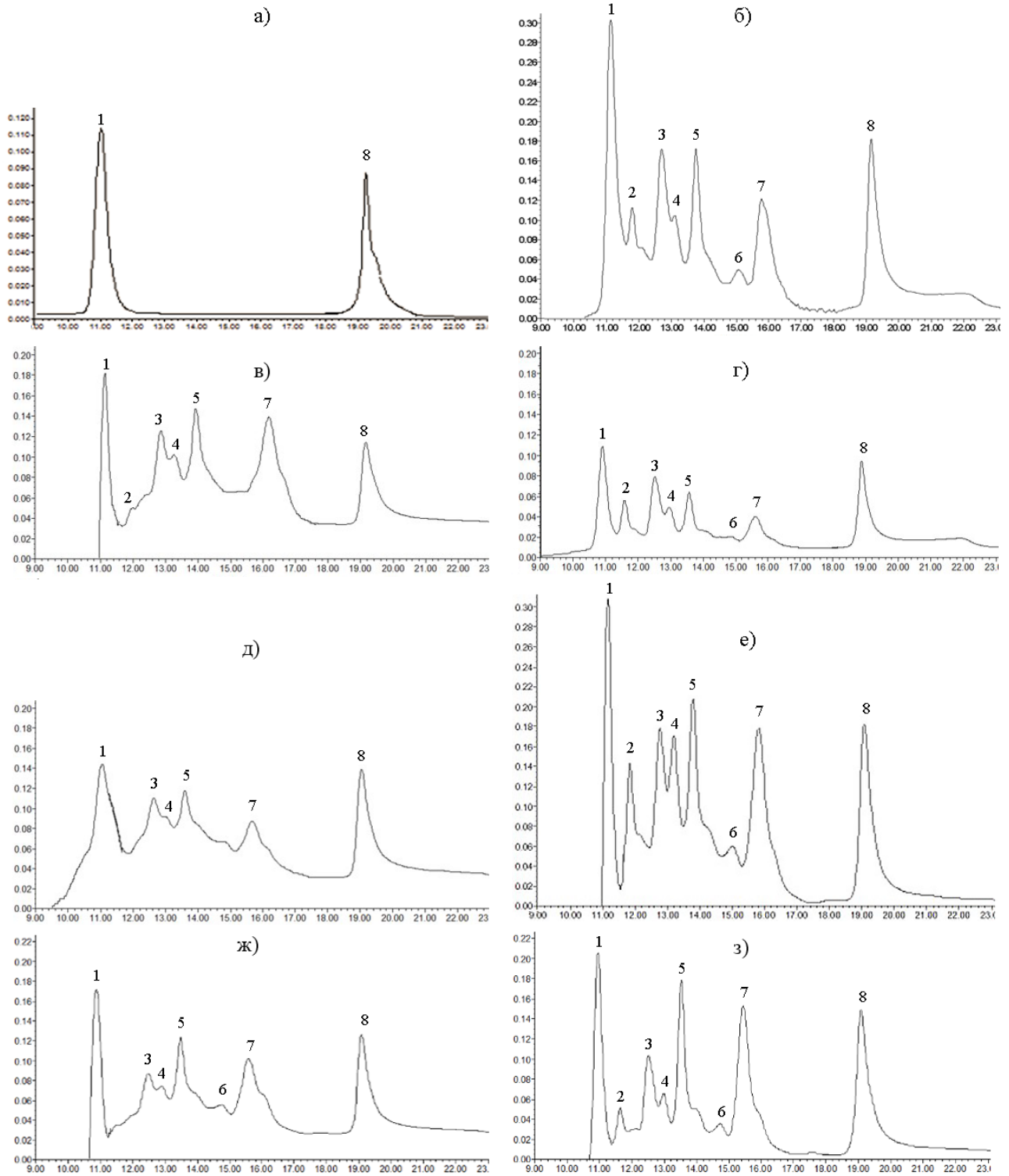


Рис. 7. Хроматограммы стандартов (а) и экстрактов антоциановых пигментов зерна фиолетовозерных линий 193 (в, д, ж) и 163 (б, г, е, з) мягкой яровой пшеницы 2015 (б), 2016 (в, г), 2017 (д, е) и 2018 (ж, з) гг. урожая. Ось ординат представляет поглощение при 525 нм, ось абсцисс – время удерживания, мин.

Примечание: 1 – цианидин-3-глюкозид, 2-7 – неидентифицированные соединения, 8 – цианидин.

Fig. 7. Chromatograms of standard (upper left corner) and anthocyanins/anthocyanidins from purple-grained wheat lines 193 (left column except upper left corner) and 163 (right column) in 2015 (upper right corner), 2016 (upper middle row), 2017 (lower middle row), 2018 (bottom row). X-axis represent the signal (absorption at $\lambda = 525$ nm), Y-axis – retention time, min. 1 – cyanidin-3-glucoside, 2-7 – unidentified compounds, 8 – cyanidin.

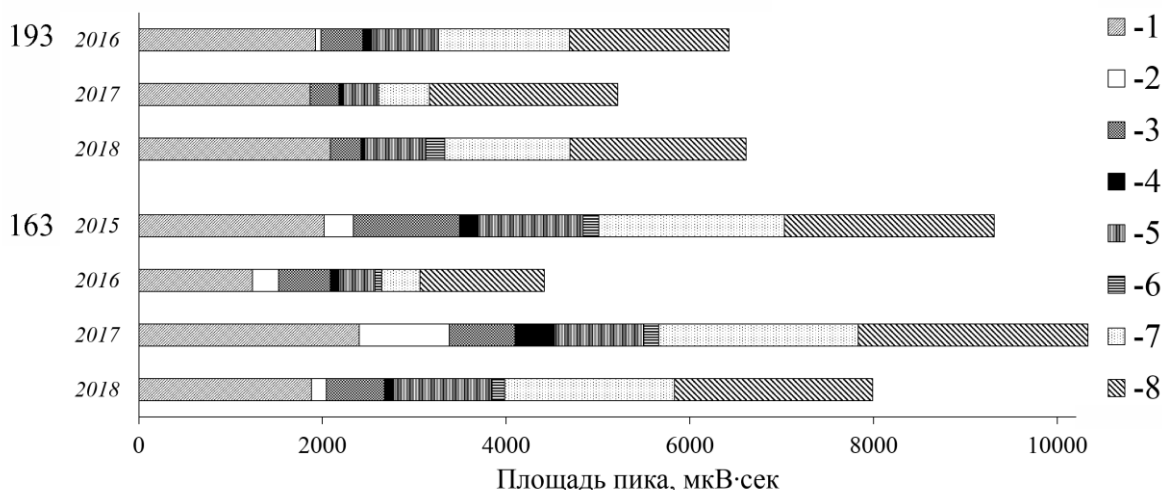


Рис. 8. Площади хроматографических пиков антоциановых пигментов, экстрагированных из зерна фиолетовозерных линий мягкой яровой пшеницы 2015-2018 гг. Примечание: 1 – цианидин-3-глюкозид, 2-7 – неидентифицированные соединения, 8 – цианидин.

Fig. 8. Chromatographic peak areas of anthocyanin pigments extracted from grains of purple-grained lines of soft spring wheat 2015-2018. The bars represent peak areas. 1 – cyanidin-3-glucoside, 2-7 – unidentified compounds, 8 – cyanidin.

ОФ-ВЭЖХ анализ антоцианов в зерне фиолетовозерных линий пшеницы

По литературным данным в фиолетовозерных сортах пшеницы идентифицировано 23 АЦ, все они являются производными трех основных антоцианидинов (цианидин, дельфинидин, пеларгонидин) и трех их метилированных форм (пеонидин, мальвинидин, петунидин), модифицированных, главным образом за счет гликозилирования [Abdel-Aal et al., 2016].

Для того чтобы проанализировать возможное вовлечение определенных АЦ в устойчивость пшеницы к засухе и высоким температурам мы проанализировали с помощью ОФ-ВЭЖХ этанольные экстракты зерна фиолетовозерных линий пшеницы. На хроматограммах АЦ зерна линий 163 и 193 можно выделить 8 пиков, из них пик 1 соответствует цианидин-3-глюкозиду, а пик 8 - агликону цианидину согласно времени удерживания стандартов (рис. 7). На всех хроматограммах пики 1 и 8 являются мажорными. Полученные результаты

согласуются с данными других исследователей, которыми показано, что цианидин-3-глюкозид – это наиболее представленный АЦ фиолетовозерных сортов пшеницы [Abdel-Aal et al., 2016]. С другой стороны, в линии 163 соединения 2 и 6 были отмечены среди АЦ в зерне всех лет исследования (рис. 7б, 7г, 7е, 7з), тогда как в линии 193 соединение 2 было обнаружено только в зерне 2016 года (рис. 7в), а соединение 6 – только в зерне 2018 года (рис. 7ж). На хроматограммах АЦ линии 193 (рис. 7в, 7д, 7ж; рис. 8) видно, что в засушливый 2016 г. увеличивалась площадь пиков 1, 3, 5 и 7, а в засушливый 2018 г. - площадь пиков 1, 5 и 7 относительно площадей этих же пиков на хроматограммах АЦ 2017 года. Увеличение площади перечисленных пиков и появление пиков 2 и 6 коррелировало с увеличением АОА зерна линии 193 в 2016 и 2018 гг. по сравнению с 2017 г. (рис. 6б; рис. 8). Полученные результаты позволяют предположить участие этих АЦ в защитных реакциях в ответ на засуху. В отличие от линии 193 засуха 2016 г. и

2018 г. вызвала снижение содержания ФС, АЦ и АОА в зерне линии 163 по сравнению с 2015 и 2017 гг. (рис. 6). При этом площади всех пиков АЦ в 2016 г. были меньше, чем в 2015 и 2017 гг. (рис. 7б, рис. 7г, рис. 7е; рис.8). Наибольшее снижение было отмечено для пиков 1, 5 и 7 (рис. 8). На хроматограммах АЦ 2018 г. было отмечено снижение пиков 1, 2, 4, 6 и 7 относительно пиков АЦ в 2015 и 2017 гг. В задачу дальнейших исследований входит масс-спектрометрическая идентификация отдельных АЦ, содержание которых увеличивается при действии засухи и высоких температур. Линии 193 и 163 могут быть хорошими моделями для изучения механизмов регуляции биосинтеза АЦ при действии засухи, поскольку одно и то же стрессовое воздействие оказывает в них противоположный эффект на накопление АЦ в зерне.

Заключение

В целом, полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что исследованные фиолетовозерные линии имеют разную устойчивость к засухе и высоким температурам. В условиях засухи 2016 г. и 2018 гг. урожайность обеих фиолетовозерных линий была сравнима с урожайностью засухоустойчивого сорта Хазинэ, а уменьшение веса 1000 зерен было характерно только для линии 163. Снижение веса 1000 зерен является проявлением стресса, результатом действия засухи на налив зерна. Изменение водного режима во время засухи вызывает различные нарушения в физиологии растений, приводящие к развитию окислительного стресса и деградации мембран клеток. Увеличение содержания ФС, АЦ и АОА при действии засухи и высоких температур было отмечено только для зерна линии 193. Для линии 163, наоборот, засушливые условия приводили к снижению содержания ФС, АЦ и АОА зерна, а умеренные температуры и достаточная влажность во время налива зерна способствовали накоплению ФС, АЦ и увеличению АОА зерна. Вероятно, способность активировать синтез ФС и АЦ, которые снижают проявление окислительного стресса, является одним из механизмов засухоустойчивости линии 193. При недостатке антиоксидантов развитие окислительного стресса может провоцировать окислительную модификацию или разрушение ферментов и регуляторных факторов, участвующих в биосинтезе крахмала и запасных белков, что приводит к снижению массы зерна, которое наблюдается в условиях засухи у линии 163. Вероятно, линия 163 также менее устойчива к высоким температурам по сравнению с линией 193 и сортом Хазинэ, поскольку снижение урожайности при действии разовых сверхвысоких температур в 2015 г., но значительное

увеличение урожайности при умеренных температурах в 2017 г. были характерны только для линии 163. Различная устойчивость фиолетовозерных линий к засухе, отчасти, может объясняться способностью активировать биосинтез ФС и АЦ с высокой АОА в ответ на действие стрессора.

Работа была выполнена в рамках госзадания КИББ ФИЦ КазНЦ РАН (№ госрегистрации АААА-А18-118022790083-9). Линии и сорта яровой мягкой пшеницы, использованные в эксперименте, данные полевых испытаний получены в рамках госзадания ТатНИИСХ ФИЦ КазНЦ РАН (№ госрегистрации ААА-А18-118031390148-1).

Литература

1. Василова Н.З. Асхадуллин Д.-л.Ф., Асхадуллин Д.-р.Ф., Багавиева Э.З., Тазутдинова М.Р., Хусаинова И.И. Достижения селекции яровой мягкой пшеницы в Татарстане // Зернобобовые и крупяные культуры. 2019. Т. 30(2). С. 124–131. DOI: 10.24411/2309-348X-2019-11102
2. Полонский В.И., Лоскутов И.Г., Сумина А.В. Селекция на содержание антиоксидантов в зерне как перспективное направление для получения продуктов здорового питания // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018. Т. 22(3). С. 343–352. DOI: 10.18699/VJ18.370
3. Abdel-Aal E.-S.M., Hucl P., Shipp J., Rabalski I. Compositional differences in anthocyanins from blue- and purple-grained spring wheat grown in four environments in central Saskatchewan // Cereal Chemistry Journal. 2016. V. 93(1). P. 32–38.
4. Balla K., Rakszegi, M., Li, Z., Békés, F., Bencze, S., Veisz, O. Quality of winter wheat in relation to heat and drought shock after anthesis // Czech J. Food Sci. 2011. V. 29(2). P. 117–128. doi: 10.17221/227/2010-CJFS
5. Barnabás B., Jäger K., Fehér A. The effect of drought and heat stress on reproductive processes in cereals // Plant Cell Environ. 2008. V. 31(1). P. 11-38. doi: 10.1111/j.1365-3040.2007.01727.x
6. Beta T., Qiu Y., Liu Q., Borgen A. Extracts from purple wheat (*Triticum* spp.) and their antioxidant effects // Nuts and seeds in health and disease prevention / ed. Preedy V.R., Watson R.R., Patel V.B. London, Burlington, San Diego: Elsevier, 2011. P. 959–966. doi: 10.1016/B978-0-12-375688-6.10113-6
7. Brand-Williams W., Cuvelier M.-E., Berset C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity // LWT Food Sci Technol. 1995. V. 28(1). P. 25–30. doi: 10.1016/S0023-6438(95)80008-5
8. Dupont F. M., Altenbach S. B. Molecular and biochemical impacts of environmental factors on wheat

- grain development and protein synthesis // *Journal of Cereal Science*. 2003. V. 38(2). P. 133–146. doi: 10.1016/S0733-5210(03)00030-4
9. Fardet A. New hypotheses for the health-protective mechanisms of whole-grain cereals: what is beyond fibre? // *Nutr. Res. Rev.* 2010. V. 23(1). P. 65–134. doi: 10.1017/S0954422410000041
10. Fernandez-Orozco R., Li L., Harflett C., Shewry P.R., Ward J.L. Effects of environment and genotype on phenolic acids in wheat in the HEALTHGRAIN diversity screen // *J. Agric. Food Chem.* 2010. V. 58(17). P. 9341–9352. doi: 10.1021/jf102017s
11. Folin O., Ciocalteu V. On tyrosine and tryptophane determinations in proteins // *Journal of Biological Chemistry*. 1927. V. 73(2). P. 627–650. doi: 10.1016/S0021-9258(18)84277-6
12. Gu A., Hao P., Lv D., Zhen S., Bian Y., Ma C., Xu Y., Zhang W., Yan Y. Integrated proteome analysis of the wheat embryo and endosperm reveals central metabolic changes involved in the water deficit response during grain development // *J. Agric. Food Chem.* 2015. V. 63(38). P. 8478–8487. doi: 10.1021/acs.jafc.5b00575
13. Heimler D., Vignolini P., Isolani L., Arfaioli P., Ghiselli L., Romani A. Polyphenol content of modern and old varieties of *Triticum aestivum* L. and *T. durum* Desf. grains in two years of production. *J. Agric. Food Chem.* 2010. V. 58(12). P. 7329–7334. doi: 10.1021/jf1010534
14. Hosseini F. S., Li W., Beta T. Measurement of anthocyanins and other phytochemicals in purple wheat // *Food Chemistry*. 2008. V. 109(4). P. 916–924. doi: 10.1016/j.foodchem.2007.12.083
15. Kaur V., Behl R. Grain yield in wheat as affected by short periods of high temperature, drought and their interaction during pre- and post-anthesis stages // *Cereal Research Communications*. 2010. V. 38(4). P. 514–520. doi: 10.1556/CRC.38.2010.4.8
16. Kim K., Tsao R., Yang R., Cui S. Phenolic acid profiles and antioxidant activities of wheat bran extracts and the effect of hydrolysis conditions // *Food Chemistry*. 2006. V. 95(3). P. 466–473. doi: 10.1016/j.foodchem.2005.01.032
17. Kim S., Hwang G., Lee S., Zhu J.-Y., Paik I., Nguyen T.T., Kim J., Oh E. High ambient temperature represses anthocyanin biosynthesis through degradation of HY5 // *Front. Plant Sci.* 2017. V. 8. P. 1787–1798. doi: 10.3389/fpls.2017.01787
18. Kino R.I., Pellny T.K., Mitchell R.A.C., Gonzalez-Uriarte A., Tosi P. High post-anthesis temperature effects on bread wheat (*Triticum aestivum* L.) grain transcriptome during early grain-filling // *BMC Plant Biol.* 2020. V. 20(1). P. 170–186. doi: 10.1186/s12870-020-02375-7
19. Kumar R., Singh V., Pawar S.K., Singh P.K., Kaur A., Sharma D. Abiotic stress and wheat grain quality: A comprehensive review // *Wheat production in changing environments* / ed. Hasanuzzaman M., Nahar K., Hossain Md. A. Singapore: Springer Singapore, 2019. P. 63–87. doi: 10.1007/978-981-13-6883-7_3
20. Lachman J., Martinek P., Kotíková Z., Orsák M., Šulc M. Genetics and chemistry of pigments in wheat grain – A review // *Journal of Cereal Science*. 2017. V. 74. P. 145–154. doi: 10.1016/j.jcs.2017.02.007
21. Li X., Lü X., Wang X., Peng Q., Zhang M., Ren M. Biotic and abiotic stress-responsive genes are stimulated to resist drought stress in purple wheat // *Journal of Integrative Agriculture*. 2020. V. 19(1). P. 33–50. doi: 10.1016/S2095-3119(19)62659-6
22. Li X., Lv X., Wang X., Wang L., Zhang M., Ren M. Effects of abiotic stress on anthocyanin accumulation and grain weight in purple wheat // *Crop Pasture Sci.* 2018a. V. 69(12). P. 1208–1214. doi: 10.1071/CP18341
23. Li X., Qian X., Lü X., Wang X., Ji N., Zhang M., Ren M. Upregulated structural and regulatory genes involved in anthocyanin biosynthesis for coloration of purple grains during the middle and late grain-filling stages // *Plant Physiology and Biochemistry*. 2018b. V. 130. P. 235–247. doi: 10.1016/j.plaphy.2018.07.011
24. Liu Q., Qiu Y., Beta T. Comparison of antioxidant activities of different colored wheat grains and analysis of phenolic compounds // *J. Agric. Food Chem.* 2010. V. 58(16). P. 9235–9241. doi: 10.1021/jf101700s
25. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // *J. Biol. Chem.* 1951. V. 193(1). P. 265–275. doi: 10.1016/S0021-9258(19)52451-6
26. Lu H., Hu Y., Wang C., Liu W., Ma G., Han Q., Ma D. Effects of high temperature and drought stress on the expression of gene encoding enzymes and the activity of key enzymes involved in starch biosynthesis in wheat grains // *Front. Plant Sci.* 2019. V. 10. P. 1414–1431. doi: 10.3389/fpls.2019.01414
27. Ma D., Sun D., Wang C., Li Y., Guo T. Expression of flavonoid biosynthesis genes and accumulation of flavonoid in wheat leaves in response to drought stress // *Plant Physiology and Biochemistry*. 2014. V. 80. P. 60–66. doi: 10.1016/j.plaphy.2014.03.024
28. Nakabayashi R., Yonekura - Sakakibara K., Urano K., Suzuki M., Yamada Y., Nishizawa T., Matsuda F., Kojima M., Sakakibara H., Shinozaki K., Michael A.J., Tohge T., Yamazaki M., Saito K. Enhancement of oxidative and drought tolerance in Arabidopsis by overaccumulation of antioxidant flavonoids // *Plant J.* 2014. V. 77(3). P. 367–379. doi: 10.1111/tj.12388

29. Parent B., Bonneau J., Maphosa L., Kovalchuk A., Langridge P., Fleury D. Quantifying wheat sensitivities to environmental constraints to dissect genotype × environment interactions in the field // *Plant Physiol.* 2017. V. 174(3). P. 1669–1682. doi: 10.1104/pp.17.00372
30. Pradhan G.P., Prasad P.V.V., Fritz A.K., Kirkham M.B., Gill B.S. Effects of drought and high temperature stress on synthetic hexaploid wheat // *Functional Plant Biol.* 2012. V. 39(3). P. 190–198. doi: 10.1071/FP11245
31. Rangan P., Furtado A., Henry R. Transcriptome profiling of wheat genotypes under heat stress during grain-filling // *Journal of Cereal Science.* 2020. V. 91. P. 102895–102903. doi: 10.1016/j.jcs.2019.102895
32. Saini H. S., Aspinall D. Abnormal sporogenesis in wheat (*Triticum aestivum* L.) induced by short periods of high temperature // *Annals of Botany.* 1982. V. 49(6). P. 835–846. doi: 10.1093/oxfordjournals.aob.a086310
33. Sanad M.N.M.E., Campbell K.G., Gill K.S. Developmental program impacts phenological plasticity of spring wheat under drought // *Bot Stud.* 2016. V. 57(1). P. 35–47. doi: 10.1186/s40529-016-0149-3
34. Savin R., Calderini D.F., Slafer G.A., Abeledo L.G. Final grain weight in wheat as affected by short periods of high temperature during pre- and post-anthesis under field conditions // *Functional Plant Biol.* 1999. V. 26(5). P. 453–458. doi: 10.1071/PP99015
35. Savin R., Nicolas M. Effects of short periods of drought and high temperature on grain growth and starch accumulation of two malting barley cultivars // *Functional Plant Biol.* 1996. V. 23(2). P. 201–210. doi: 10.1071/PP9960201
36. Sehgal A., Sita K., Siddique K.H.M., Kumar R., Bhogireddy S., Varshney R.K., HanumanthaRao B., Nair R.M., Prasad P.V.V., Nayyar H. Drought or/and heat-stress effects on seed filling in food crops: impacts on functional biochemistry, seed yields, and nutritional quality // *Front. Plant Sci.* 2018. V. 9. P. 1705–1724. doi: 10.3389/fpls.2018.01705
37. Shamloo M., Babawale E.A., Furtado A., Henry R.J., Eck P.K., Jones P.J.H. Effects of genotype and temperature on accumulation of plant secondary metabolites in Canadian and Australian wheat grown under controlled environments // *Sci Rep.* 2017. V. 7(1). P. 9133–9145. doi: 10.1038/s41598-017-09681-5
38. Sharma A., Shahzad B., Rehman A., Bhardwaj R., Landi M., Zheng B. Response of phenylpropanoid pathway and the role of polyphenols in plants under abiotic stress // *Molecules.* 2019. V. 24(13). P. 2452–2474. doi: 10.3390/molecules24132452
39. Shewry P.R., D'Ovidio R., Lafiandra D., Jenkins J.A., Mills E.N.C., Békés F. Wheat grain proteins // *Wheat: chemistry and technology* / ed. Khan K., Shewry P.R. St. Paul, Minn., USA: AACC International, 2009. 4th ed. P. 223–298.
40. Talukder A.S.M.H.M., McDonald G.K., Gill G.S. Effect of short-term heat stress prior to flowering and early grain set on the grain yield of wheat // *Field Crops Research.* 2014. V. 160. P. 54–63. doi: 10.1016/j.fcr.2014.01.013
41. Yang F., Jørgensen A.D., Li H., Søndergaard I., Finnie C., Svensson B., Jiang D., Wollenweber B., Jacobsen S. Implications of high-temperature events and water deficits on protein profiles in wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Vinjett) grain // *Proteomics.* 2011. V. 11(9). P. 1684–1695. doi: 10.1002/pmic.201000654
42. Zaidi S.H.R., Zakari S.A., Zhao Q., Khan A.R., Shah J.M., Cheng F. Anthocyanin accumulation in black kernel mutant rice and its contribution to ROS detoxification in response to high temperature at the filling stage // *Antioxidants.* 2019. V. 8(11). P. 510–523. doi: 10.3390/antiox8110510
43. Zhang Y., Huang X., Wang L., Wei L., Wu Z., You M., Li B. Proteomic analysis of wheat seed in response to drought stress // *Journal of Integrative Agriculture.* 2014. V. 13(5). P. 919–925. doi: 10.1016/S2095-3119(13)60601-2
44. Zhu J., Khan K. Effects of genotype and environment on glutenin polymers and breadmaking quality // *Cereal Chemistry Journal.* 2001. V. 78(2). P. 125–130. doi: 10.1094/CCHEM.2001.78.2.125
45. Žilić S. Phenolic compounds of wheat. Their content, antioxidant capacity and bioaccessibility // *MOJFPT.* 2016. V. 2(3). P. 652–658. doi: 10.15406/mojfpt.2016.02.00037

References

- Vasilova N. Z., Askhadullin D.-I.F., Askhadullin D.-r.F., Bagavieva E.Z., Tazutdinova M.R., Khusainova I.I. Dostizhenija selekcii jarovoj mjakgoj pshenicy v Tatarstane. Legumes and Groat Crops. 2019. Vol. 30(2). P. 124–131. DOI: 10.24411/2309-348X-2019-11102 [Achieving the Breeding of Spring Soft Wheat in Tatarstan] (In Russian).
- Polonskiy V. I., Loskutov I. G., Sumina A. V. Selekcija na sodержanie antioksidantov v zerne kak perspektivnoe napravlenie dlja poluchenija produktov zdorovogo pitaniya. Vavilov Journal of Genetics and Selection. 2018. Vol. 22(3). P. 343–352. DOI: 10.18699/VJ18.370 [Breeding for antioxidant content in grain as a promising trend in obtaining healthy food products] (In Russian).
- Abdel-Aal E.-S.M., Hucl P., Shipp J., Rabalski I. Compositional differences in anthocyanins from blue- and purple-grained spring wheat grown in four environments in central Saskatchewan. *Cereal Chemistry Journal.* 2016. V. 93(1). P. 32–38.
- Balla K., Rakszegi, M., Li, Z., Békés, F., Bencze, S., Veisz, O. Quality of winter wheat in relation to heat and

- drought shock after anthesis. *Czech J. Food Sci.* 2011. V. 29(2). P. 117–128. doi: 10.17221/227/2010-CJFS
5. Barnabás B., Jäger K., Fehér A. The effect of drought and heat stress on reproductive processes in cereals. *Plant Cell Environ.* 2008. V. 31(1). P. 11–38. doi: 10.1111/j.1365-3040.2007.01727.x
 6. Beta T., Qiu Y., Liu Q., Borgen A. Extracts from purple wheat (*Triticum* spp.) and their antioxidant effects. In: *Nuts and seeds in health and disease prevention* / ed. Preedy V.R., Watson R.R., Patel V.B. London, Burlington, San Diego: Elsevier, 2011. P. 959–966. doi: 10.1016/B978-0-12-375688-6.10113-6
 7. Brand-Williams W., Cuvelier M.-E., Berset C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT Food Sci Technol.* 1995. V. 28(1). P. 25–30. doi: 10.1016/S0023-6438(95)80008-5
 8. Dupont F. M., Altenbach S. B. Molecular and biochemical impacts of environmental factors on wheat grain development and protein synthesis. *Journal of Cereal Science.* 2003. V. 38(2). P. 133–146. doi: 10.1016/S0733-5210(03)00030-4
 9. Fardet A. New hypotheses for the health-protective mechanisms of whole-grain cereals: what is beyond fibre? *Nutr. Res. Rev.* 2010. V. 23(1). P. 65–134. doi: 10.1017/S0954422410000041
 10. Fernandez-Orozco R., Li L., Harflett C., Shewry P.R., Ward J.L. Effects of environment and genotype on phenolic acids in wheat in the HEALTHGRAIN diversity screen. *J. Agric. Food Chem.* 2010. V. 58(17). P. 9341–9352. doi: 10.1021/jf102017s
 11. Folin O., Ciocalteu V. On tyrosine and tryptophan determinations in proteins. *Journal of Biological Chemistry.* 1927. V. 73(2). P. 627–650. doi: 10.1016/S0021-9258(18)84277-6
 12. Gu A., Hao P., Lv D., Zhen S., Bian Y., Ma C., Xu Y., Zhang W., Yan Y. Integrated proteome analysis of the wheat embryo and endosperm reveals central metabolic changes involved in the water deficit response during grain development. *J. Agric. Food Chem.* 2015. V. 63(38). P. 8478–8487. doi: 10.1021/acs.jafc.5b00575
 13. Heimler D., Vignolini P., Isolani L., Arfaioli P., Ghiselli L., Romani A. Polyphenol content of modern and old varieties of *Triticum aestivum* L. and *T. durum* Desf. grains in two years of production. *J. Agric. Food Chem.* 2010. V. 58(12). P. 7329–7334. doi: 10.1021/jf1010534
 14. Hosseinian F. S., Li W., Beta T. Measurement of anthocyanins and other phytochemicals in purple wheat. *Food Chemistry.* 2008. V. 109(4). P. 916–924. doi: 10.1016/j.foodchem.2007.12.083
 15. Kaur V., Behl R. Grain yield in wheat as affected by short periods of high temperature, drought and their interaction during pre- and post-anthesis stages. *Cereal Research Communications.* 2010. V. 38(4). P. 514–520. doi: 10.1556/CRC.38.2010.4.8
 16. Kim K., Tsao R., Yang R., Cui S. Phenolic acid profiles and antioxidant activities of wheat bran extracts and the effect of hydrolysis conditions. *Food Chemistry.* 2006. V. 95(3). P. 466–473. doi: 10.1016/j.foodchem.2005.01.032
 17. Kim S., Hwang G., Lee S., Zhu J.-Y., Paik I., Nguyen T.T., Kim J., Oh E. High ambient temperature represses anthocyanin biosynthesis through degradation of HY5. *Front. Plant Sci.* 2017. V. 8. P. 1787–1798. doi: 10.3389/fpls.2017.01787
 18. Kino R.I., Pellny T.K., Mitchell R.A.C., Gonzalez-Uriarte A., Tosi P. High post-anthesis temperature effects on bread wheat (*Triticum aestivum* L.) grain transcriptome during early grain-filling. *BMC Plant Biol.* 2020. V. 20(1). P. 170–186. doi: 10.1186/s12870-020-02375-7
 19. Kumar R., Singh V., Pawar S.K., Singh P.K., Kaur A., Sharma D. Abiotic stress and wheat grain quality: A comprehensive review. In: *Wheat production in changing environments* / ed. Hasanuzzaman M., Nahar K., Hossain Md. A. Singapore: Springer Singapore, 2019. P. 63–87. doi: 10.1007/978-981-13-6883-7_3
 20. Lachman J., Martinek P., Kotíková Z., Orsák M., Šulc M. Genetics and chemistry of pigments in wheat grain – A review. *Journal of Cereal Science.* 2017. V. 74. P. 145–154. doi: 10.1016/j.jcs.2017.02.007
 21. Li X., Lü X., Wang X., Peng Q., Zhang M., Ren M. Biotic and abiotic stress-responsive genes are stimulated to resist drought stress in purple wheat. *Journal of Integrative Agriculture.* 2020. V. 19(1). P. 33–50. doi: 10.1016/S2095-3119(19)62659-6
 22. Li X., Lv X., Wang X., Wang L., Zhang M., Ren M. Effects of abiotic stress on anthocyanin accumulation and grain weight in purple wheat. *Crop Pasture Sci.* 2018a. V. 69(12). P. 1208–1214. doi: 10.1071/CP18341
 23. Li X., Qian X., Lü X., Wang X., Ji N., Zhang M., Ren M. Upregulated structural and regulatory genes involved in anthocyanin biosynthesis for coloration of purple grains during the middle and late grain-filling stages. *Plant Physiology and Biochemistry.* 2018b. V. 130. P. 235–247. doi: 10.1016/j.plaphy.2018.07.011
 24. Liu Q., Qiu Y., Beta T. Comparison of antioxidant activities of different colored wheat grains and analysis of phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.* 2010. V. 58(16). P. 9235–9241. doi: 10.1021/jf101700s
 25. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 1951. V. 193(1). P. 265–275. doi: 10.1016/S0021-9258(19)52451-6

26. Lu H., Hu, Y., Wang, C., Liu, W., Ma, G., Han, Q., Ma, D. Effects of high temperature and drought stress on the expression of gene encoding enzymes and the activity of key enzymes involved in starch biosynthesis in wheat grains. *Front. Plant Sci.* 2019. V. 10. P. 1414-1431. doi:10.3389/fpls.2019.01414
27. Ma D., Sun D., Wang C., Li Y., Guo T. Expression of flavonoid biosynthesis genes and accumulation of flavonoid in wheat leaves in response to drought stress. *Plant Physiology and Biochemistry.* 2014. V. 80. P. 60–66. doi: 10.1016/j.plaphy.2014.03.024
28. Nakabayashi R., Yonekura - Sakakibara K., Urano K., Suzuki M., Yamada Y., Nishizawa T., Matsuda F., Kojima M., Sakakibara H., Shinozaki K., Michael A.J., Tohge T., Yamazaki M., Saito K. Enhancement of oxidative and drought tolerance in Arabidopsis by overaccumulation of antioxidant flavonoids. *Plant J.* 2014. V. 77(3). P. 367–379. doi: 10.1111/tjp.12388
29. Parent B., Bonneau J., Maphosa L., Kovalchuk A., Langridge P., Fleury D. Quantifying wheat sensitivities to environmental constraints to dissect genotype × environment interactions in the field. *Plant Physiol.* 2017. V. 174(3). P. 1669–1682. doi: 10.1104/pp.17.00372
30. Pradhan G.P., Prasad P.V.V., Fritz A.K., Kirkham M.B., Gill B.S. Effects of drought and high temperature stress on synthetic hexaploid wheat. *Functional Plant Biol.* 2012. V. 39(3). P. 190-198. doi: 10.1071/FP11245
31. Rangan P., Furtado A., Henry R. Transcriptome profiling of wheat genotypes under heat stress during grain-filling. *Journal of Cereal Science.* 2020. V. 91. P. 102895-102903. doi: 10.1016/j.jcs.2019.102895
32. Saini H. S., Aspinall D. Abnormal sporogenesis in wheat (*Triticum aestivum* L.) induced by short periods of high temperature. *Annals of Botany.* 1982. V. 49(6). P. 835–846. doi: 10.1093/oxfordjournals.aob.a086310
33. Sanad M.N.M.E., Campbell K.G., Gill K.S. Developmental program impacts phenological plasticity of spring wheat under drought. *Bot Stud.* 2016. V. 57(1). P. 35-47. doi: 10.1186/s40529-016-0149-3
34. Savin R., Calderini D.F., Slafer G.A., Abeledo L.G. Final grain weight in wheat as affected by short periods of high temperature during pre- and post-anthesis under field conditions. *Functional Plant Biol.* 1999. V. 26(5). P. 453-458. doi: 10.1071/PP99015
35. Savin R., Nicolas M. Effects of short periods of drought and high temperature on grain growth and starch accumulation of two malting barley cultivars. *Functional Plant Biol.* 1996. V. 23(2). P. 201-210. doi: 10.1071/PP9960201
36. Sehgal A., Sita K., Siddique K.H.M., Kumar R., Bhogireddy S., Varshney R.K., HanumanthaRao B., Nair R.M., Prasad P.V.V., Nayyar H. Drought or/and heat-stress effects on seed filling in food crops: impacts on functional biochemistry, seed yields, and nutritional quality. *Front. Plant Sci.* 2018. V. 9. P. 1705-1724. doi: 10.3389/fpls.2018.01705
37. Shamloo M., Babawale E.A., Furtado A., Henry R.J., Eck P.K., Jones P.J.H. Effects of genotype and temperature on accumulation of plant secondary metabolites in Canadian and Australian wheat grown under controlled environments. *Sci Rep.* 2017. V. 7(1). P. 9133–9145. doi: 10.1038/s41598-017-09681-5
38. Sharma A., Shahzad B., Rehman A., Bhardwaj R., Landi M., Zheng B. Response of phenylpropanoid pathway and the role of polyphenols in plants under abiotic stress. *Molecules.* 2019. V. 24(13). P. 2452-2474. doi: 10.3390/molecules24132452
39. Shewry P.R., D'Ovidio R., Lafiandra D., Jenkins J.A., Mills E.N.C., Békés F. Wheat grain proteins. In: *Wheat: chemistry and technology* / ed. Khan K., Shewry P.R. St. Paul, Minn., USA: AACC International, 2009. 4th ed. P. 223–298.
40. Talukder A.S.M.H.M., McDonald G.K., Gill G.S. Effect of short-term heat stress prior to flowering and early grain set on the grain yield of wheat. *Field Crops Research.* 2014. V. 160. P. 54–63. doi: 10.1016/j.fcr.2014.01.013
41. Yang F., Jørgensen A.D., Li H., Søndergaard I., Finnie C., Svensson B., Jiang D., Wollenweber B., Jacobsen S. Implications of high-temperature events and water deficits on protein profiles in wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Vinjett) grain. *Proteomics.* 2011. V. 11(9). P. 1684–1695. doi: 10.1002/pmic.201000654
42. Zaidi S.H.R., Zakari S.A., Zhao Q., Khan A.R., Shah J.M., Cheng F. Anthocyanin accumulation in black kernel mutant rice and its contribution to ROS detoxification in response to high temperature at the filling stage. *Antioxidants.* 2019. V. 8(11). P. 510-523. doi: 10.3390/antiox8110510
43. Zhang Y., Huang X., Wang L., Wei L., Wu Z., You M., Li B. Proteomic analysis of wheat seed in response to drought stress. *Journal of Integrative Agriculture.* 2014. V. 13(5). P. 919–925. doi: 10.1016/S2095-3119(13)60601-2
44. Zhu J., Khan K. Effects of genotype and environment on glutenin polymers and breadmaking quality. *Cereal Chemistry Journal.* 2001. V. 78(2). P. 125–130. doi: 10.1094/CCHEM.2001.78.2.125
45. Žilić S. Phenolic compounds of wheat. Their content, antioxidant capacity and bioaccessibility. *MOJFPT.* 2016. V. 2(3). P. 652–658. doi: 10.15406/mojfpt.2016.02.00037