

<https://doi.org/10.15407/frg2022.03.187>

УДК 577.21:579.254.2:633.11

АКТУАЛЬНІ НАПРЯМИ СУЧАСНИХ БІОТЕХНОЛОГІЙ ПШЕНИЦІ

С.І. МИХАЛЬСЬКА, А.Г. КОМІСАРЕНКО

*Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України
03022 Київ, вул. Васильківська, 31/17
e-mail: mykhalskasvitlana@gmail.com*

Пшениця (*Triticum aestivum* L.) — одна з найважливіших зернових культур, вона є ключовим компонентом раціону людини, основним складником кормів для тварин і зерна для промислових цілей. У зв'язку зі збільшенням чисельності населення в світі зростає необхідність розширення виробництва та збільшення продуктивності пшениці. Крім того, кліматичні зміни потребують підвищення адаптивного потенціалу рослин до стресових погодних умов. У зв'язку з цим поліпшення пшениці за ознаками стійкості до біотичних та абіотичних стресів, ознаками якості зерна й ознаками, що впливають на врожайність — основні завдання селекціонерів і генетиків. Подолати негативний вплив біотичних та абіотичних чинників, які здатні значно знижувати врожай цієї культури, можна за допомогою генно-інженерних технологій і добору генотипів із господарсько-важливими ознаками, базуючись на вивченні генетичного поліморфізму. В огляді розглянуто сучасні біотехнологічні підходи поліпшення господарсько-цінних ознак пшениці. Описано перспективні генно-інженерні технології підвищення продуктивності та адаптивності пшениці до абіотичних і біотичних стресів. Висвітлено можливості маркер-асоційованої селекції в процесі створення сортів пшениці з унікальними комбінаціями генів, що забезпечують адаптацію до умов вирощування й набуття необхідного рівня корисних технологічних ознак. Наведено приклади створення нових генотипів пшениці з підвищеною стійкістю до стресових чинників за допомогою генетичних модифікацій. Показано можливості сучасних технологій цілеспрямованого редагування геному із застосуванням системи CRISPR/Cas9 та отримання модифікованих рослин пшениці без продукування в них трансгенних білків із використанням регуляторних механізмів експресії генів шляхом РНК-інтерференції.

Ключові слова: *Triticum aestivum* L., стресостійкість, продуктивність, генно-інженерні технології, маркер-асоційована селекція, генетична модифікація, РНК-інтерференція.

Біотехнологічні інструментарії підвищення стійкості пшениці до абіотичних і біотичних чинників. Основою сучасного сільськогосподарського виробництва у світі та в Україні є створення високопродуктивних, стійких до дії стресових чинників сортів і гібридів культурних злаків, у тому числі й пшениці м'якої (*Triticum aestivum* L.), однієї з найваж-

Цитування: Михальська С.І., Комісаренко А.Г. Актуальні напрями сучасних біотехнологій пшениці. *Фізіологія рослин і генетика*. 2022. 54, № 3. С. 187—213. <https://doi.org/10.15407/frg2022.03.187>

ливіших зернових культур, яка є основою харчового раціону більшості людства і посідає чільне місце за посівними площами. В Україні пшеницю вирощують на площі 6 млн 794 тис. га, що становить 40 % посіву всіх зернових культур [1–3].

Зміна клімату є однією з причин біотичних та абіотичних стресів, які негативно впливають на розвиток і продуктивність пшениці. Так, підвищення температури на 1 °С може знижувати врожай цієї культури на 6 %, зокрема результати досліджень, проведених в Індії, свідчать, що втрата зерна може становити від 4 до 5 млн т [4, 5]. Слід зазначити, що ступінь несприятливого впливу високих температур і посухи на продуктивність рослин великою мірою залежить від тривалості дії стресового чинника та фенологічної стадії посіву [6, 7]. Додатковим негативним чинником для формування врожаю пшениці є також підвищений вміст вуглекислого газу в атмосфері, що призводить до зниження вмісту білка й вільних амінокислот у зерні [8]. Загалом є відомості, що на практиці реалізується лише 30 % урожайності пшениці, закладеної в генетичному потенціалі рослин, через втрати, спричинені хворобами, шкідниками та абіотичними стресами [9]. Більше того, з підвищенням рівня життя постає дедалі більше вимог до якості зерна і продуктів харчування з пшениці. Основними завданнями селекціонерів і генетиків при створенні високопродуктивних сортів пшениці з широкою агроecологічною пластичністю є генетичне поліпшення рослин за ознаками врожайності та якості зерна, стійкості до основних хвороб (іржа, сажка, фузаріоз), до абіотичних стресів (засуха, засолення, високі й низькі температури), до вилягання та низки інших важливих характеристик. При цьому сучасна селекційна робота потребує поєднання в одному сорті значної кількості ознак, які залежать не тільки від генотипу, а й формуються умовами вирощування [10, 11]. Пшениця може рости в різних умовах — від зрошуваних із великою кількістю опадів до посушливих районів та від теплих і вологих до сухих і холодних. Отже, вирішення проблеми і постановка цілей є ключовими моментами для успіху будь-якої програми селекції цієї культури.

Для створення нових сортів пшениці з бажаними характеристиками традиційні методи селекції залишаються ключовими, але у вирішенні деяких завдань селекція, заснована на фенотипних ознаках, не завжди дає позитивні результати [12]. В останні роки в процесі пришвидшення селекції пшениці дедалі більшого значення набувають ДНК-технології, важливим аспектом яких є детальна характеристика генетичного різноманіття використовуваного матеріалу для впровадження технологій, що базуються на аналізі поліморфізму ДНК. Переконливо доведено, що світові генетичні ресурси рослин є основним джерелом поліпшення сільськогосподарських культур, при цьому диференціація сортового матеріалу для добору генотипів із певними господарсько-важливими ознаками потребує аналізу величезного масиву рослинних геномів [12–18].

Застосування молекулярних маркерів у селекційних програмах пшениці має певні проблеми через великий розмір і складність її генома порівняно з геномами інших сільськогосподарських культур. Проте протягом останніх 50 років було докладено багато зусиль, щоб

встановити генетичну зумовленість важливих селекційних ознак пшениці з використанням маркер-асоційованої селекції MAS (marker-associated selection). Унаслідок постійного розвитку молекулярної генетики, як правило, з'являються нові типи молекулярних маркерів, які дають змогу значно пришвидшувати процес створення сортів пшениці, поєднувати унікальні комбінації генів, що забезпечують адаптацію рослин до умов вирощування і необхідний рівень розвитку цінних технологічних ознак [13–19].

Застосування молекулярних маркерів на основі зміни довжини рестрикційного фрагмента RFLP (restriction fragment length polymorphism) ДНК для пшениці не дуже ефективно через низький рівень поліморфізму довжини рестрикційного фрагмента у зв'язку з високою частотою монотонних ділянок ДНК в її геномі [20]. Найпоширенішим типом маркерів, що їх використовують для пшениці, є маркери, засновані на простих повторюваних послідовностях SSR (simple sequence repeats) завдовжки 1–6 нуклеотидів. Через виявлення повторень у різних частинах геному SSR стає корисним інструментом для прогнозування рівня поліморфізму. Через таку перевагу ці маркери ідентифіковані як специфічні для важливих генів і нині їх широко використовують при вивченні геному пшениці [14]. Розвиток методів секвенування геному дає можливість визначити безліч маркерів, заснованих на одонуклеотидних відмінностях алелів SNP (single-nucleotide polymorphism), розподілених по всьому геному. Ці SNP використовують при аналізі генетичних зв'язків, вони допомагають селекціонерам пшениці встановити ділянку розміщення локусів кількісних ознак QTL (quantitative trait loci), пов'язаних із важливими генами, за допомогою дослідження асоціацій у масштабі всього геному [21]. В результаті встановлення геномної асоціації з такими важливими характеристиками пшениці, як стійкість до хвороб, посухи, морозостійкість, показниками передзбирального проростання зерна, маси тисячі зернин, висоти стебла рослин і низки інших ознак, створено сорти, які поєднують унікальні комбінації алелів генів, що забезпечують адаптацію до умов вирощування й необхідний рівень цінних технологічних ознак [13, 16, 22].

Потужним інструментом у селекційному процесі пшениці є й сучасні методи генетичної інженерії, які дають змогу передавати один або кілька генів від одного генотипу до іншого, причому донор і реципієнт не обов'язково мають бути одного виду чи таксону. Це різко збільшує різноманітність за певними ознаками, пришвидшує процес отримання рослин із заданими властивостями, а також, що особливо важливо, забезпечує можливість відстежувати генетичні зміни та їхні наслідки. Залучення методів генетичної інженерії істотно розширює можливості процесу створення нових форм рослин як цінного вихідного матеріалу. Крім того, трансгенні рослини можуть бути унікальними об'єктами для вивчення фундаментальних проблем функціонування генів [23, 24].

Успішними на сьогодні є методи генетичної модифікації пшениці з використанням *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації генів [25–28]. Отримання трансгенних рослин за допомогою *A. tumefaciens* тривалий час вважали неможливим у зв'язку зі стійкістю зла-

кових культур до цього патогена. Передбачалося, що несприйняття агробактеріального зараження однодольними спричинене відсутністю специфічних сигнальних молекул, які індуюють Vir-ділянку та вирізання T-ДНК. На сьогодні встановлено, що такі молекули виділяються багатьма однодольними і злаками в тому числі, а інтеграція T-ДНК залежить від віку, фізіологічного стану рослин та умов проведення досліду [25, 26, 29]. Після першого повідомлення про трансформацію пшениці з використанням *A. tumefaciens* [25] цей метод став успішним для створення трансгенних рослин пшениці з бажаним геном (генами) корисних ознак. Останнім часом увага дослідників спрямована на розробку методів інтеграції рекомбінантних молекул ДНК у геном рослин *in planta*, що важливо у зв'язку з підвищенням ефективності трансгенезу. Крім того, такий спосіб має низку переваг, зокрема — менш трудомісткий, економічно вигідний. На сьогодні оптимальні параметри й механізм передачі T-ДНК у зародкові клітини пшениці при трансформації *in planta* ще повністю не визначені, але безперечним є факт, що успішність цієї процедури залежить від генотипу рослин, стадії їх розвитку, тривалості контакту рослинних тканин із бактеріальною суспензією, періоду і температурного режиму інокуляції [26, 30—32].

Актуальний напрям сучасних молекулярних біотехнологій культурних рослин, у тому числі й злакових, пов'язаний із регуляторними механізмами експресії генів способом РНК-інтерференції (RNA interference, RNAi), яка стала потужним інструментом функціонального аналізу ролі конкретних генів у загальній системі генетичного контролю. Короткі некодувальні мікроРНК завдовжки 20—22 пн — miRNAs відіграють регуляторну роль у багатьох процесах. Вони зв'язуються з транскриптами-мішенями внаслідок комплементарного спарювання основ, викликають їх розщеплення, пригнічують трансляцію, що призводить до зниження експресії цільового гена. Опосередкований miRNA механізм сайленсингу регулює експресію генів метаболізму рослинних гормонів, транскрипційних факторів та інших шляхів передачі сигналів розвитку стресу [33, 34]. Важливим напрямом застосування технології RNAi для пшениці є боротьба з патогенними мікроорганізмами і шкідниками [34]. Крім того, її використання дає змогу впливати на якість і кількість зерна пшениці [35]. На підставі результатів наших власних досліджень і низки інших авторів показано перспективність використання РНК-інтерференції генів ферментів катаболізму осмолітів, а саме проліндегідрогенази (ПДГ), для підвищення рівня стійкості рослин до несприятливих чинників навколишнього середовища [23, 27, 36].

Однією з нових, перспективних технологій модифікації геному є спосіб точного сайт-специфічного, а не випадкового, як у інших методах, редагування генів, в основі якого є згруповані короткі паліндромні повтори з регуляторними проміжками CRISPR (clustered regularly interspaced short palindromic repeats). CRISPR містять некодувальні РНК, що специфічно зв'язуються з ДНК, і білки Cas (CRISPR-associated), які спричиняють розриви в нуклеотидних послідовностях ДНК. При цьому механізм відновлення геному запускає систему редагування (інактивування) гена в місці розриву за типом

мутації інсерції/делеції. Місце пошкодження точно встановлюють за допомогою напрямної РНК, що дає змогу інактивувати саме потрібні гени. Крім того, в місце розриву можна вводити послідовність ДНК для посилення функціональності гена [37]. Цей метод швидко поширився у світі через високу ефективність у досягненні поставленої мети, його вважають потенційно «реальною силою» у редагуванні генів, що кодують важливі ознаки пшениці. Складність застосування цього методу полягає в тому, що пшениця є алогексаплоїдом, її геном складається з трьох різних субгеномів А, В і D, кожен з яких еквівалентний геному диплоїдної рослини, його редагування може призвести до гомозиготних, гетерозиготних і химерних мутантів [38].

Попри необхідність редагування кожної копії цільового гена результати багатьох досліджень свідчать про успішне застосування CRISPR для зміни чи коригування важливих господарсько-цінних ознак, таких як стійкість до біотичних та абіотичних стресів, врожайність, якість зерна, чоловіча стерильність та ін. [39].

Незважаючи на вдосконалення прийомів генетичної модифікації рослин, застосування існуючих методів все ще залишається дорогим і трудомістким завданням. Це спонукає дослідників шукати нові підходи і способи для пришвидшення процесів модифікації зернових культур з метою подолання дії біотичних та абіотичних чинників, які можуть створювати несприятливі умови для росту й розвитку рослин пшениці й призводити до істотного зниження врожаю [40]. Полігенна природа ознак стійкості до абіотичних стресів і вузький генетичний пул певною мірою ускладнює селекцію пшениці в цьому напрямі. Крім того, вона до певного часу не була сфокусована на сигнальних шляхах регулювання стійкості [41]. Вибір відповідної стратегії та розуміння молекулярних принципів керування реакцією рослин на абіотичні чинники стресу є передумовою для створення стійких до нього сортів.

Маркер-асоційована селекція підвищення стійкості пшениці до дії стресових чинників. Молекулярні маркери сприяють вивченню унікальних алельних варіацій у пшениці, а аналіз ДНК, який безпосередньо характеризує геном, може сприяти визначенню стійких характеристик рослин, що не залежать від середовища вирощування і практично придатні для ідентифікації генотипів і маркування господарсько-цінних ознак. Основою для розуміння комплексних фізіологічних і генетичних механізмів стійкості пшениці до посухи є знання фенотипних показників, які роблять внесок у підвищення врожайності в стресових умовах. Серед найважливіших цільових показників такі, як зниження висоти рослин, що пов'язано з високим світлозбиральним індексом; скорочення періоду від цвітіння до стиглості, що дає змогу уникнути тривалого температурного стресу; будова кореневої системи, її розгалуження й довжина коренів, що забезпечує ефективне отримання вологи з ґрунту; ліпші продихова провідність і транспірація [42].

Грунтуючись на значному взаємозв'язку між морфофізіологічними ознаками та алельним станом генів у пшениці встановлено 33 маркери стійкості до посухи [43]. Дослідження асоціації всього генома дало змогу ідентифікувати гени-кандидати, що контролюють по-

сухо- і жаростійкість твердої пшениці [44]. Визначено гени, розміщені на 4 різних хромосомах, які контролюють довжину коренів в умовах водного стресу [45]. За допомогою маркерів SSR ідентифіковано 24 гени, котрі відповідають за солестійкість у пшениці. За нуклеотидними відмінностями алелів ідентифіковано участь сигнальних генів у реалізації врожайності та стійкості до посухи [46]. Встановлено кореляцію гена *DREB1A* з індексом росту та біомаси, показано зв'язок індексу врожаю і старіння листків із генами *ERAI-B*, *ERAI-D*. Встановлено алельну різноманітність у послідовності гена білка теплового шоку (*HSP16.9*) між терmostійкими і чутливими до нагрівання генотипами пшениці. Нуклеотидні відмінності алелів у 29,89 % випадках відображались у зміні маси зерна на колос [47].

Під час пошуку молекулярних маркерів стійкості пшениці до окремої та спільної дії високих температур (42 °C) і посухи простежено кореляцію між експресією генів чотирьох стресових білків: нефотосинтетичного ензиму *TaNADP-ME2*, серинтреонінкінази *W55N*, дегідрину *DHN14*, ліпокаліну *TaTIL* та ступенем стійкості до стресових чинників восьми сортів ярої пшениці. Показано, що експресія генів *DHN14* і *TaTIL* генотипно детермінована й позитивно корелює зі стійкістю, що робить їх потенційними молекулярними маркерами тепло- та посухостійкості ярої пшениці. Автори дослідження рекомендували ці гени для використання в технологіях трансгенної селекції при створенні адаптованих до умов середовища нових сільськогосподарських культур [48]. При цьому необхідно враховувати, що толерантність до теплового стресу — полігенна ознака й єдиний молекулярний маркер не завжди сприяє добору генотипів, що характеризуються ознакою підвищеної стійкості. У зв'язку з цим важливо включити кілька SNP, пов'язаних із різними QTL, що контролюють механізми подолання теплового стресу. Звісно, успішність застосування MAS-селекції безпосередньо залежить від наявності генів або QTL, що кодують стійкість до певного стресового чинника, але вони не специфічні до певних локальних середовищ і не зчеплені з небажаними ознаками [49, 50]. Із застосуванням QTL картування успішно створюють сорти пшениці, які здатні протистояти посузі, без впливу на врожайність та якість зерна. В результаті селекційних досліджень із використанням маркерів на м'якій пшениці (*Triticum aestivum* L.) і твердій пшениці (*Triticum turgidum* L.) визначено QTL, пов'язані з посухою. Для рекомбінантних інбредних ліній пшениці в різних стресових умовах повені, посухи, високих температур і комбінації високих температур та посухи одночасно мапування QTL показало зміну врожайності зерна на 19,6 % [51].

На сьогодні використання MAS істотно розширило можливості для ідентифікації генів пшениці, що контролюють ознаки стійкості [41]. Біотехнологічні методи, засновані на аналізі ДНК, дали змогу ідентифікувати безліч генетичних маркерів для виявлення асоціації з бажаними агрономічними характеристиками *Triticum aestivum*. У низці досліджень виявлено гени, пов'язані з розміром колоса [52], врожайністю зерна [53, 54], висотою рослин і масою 1000 зернин [55]. Переважна частина робіт спрямована на дослідження підвищення стійкості пшениці до хвороб. У цьому MAS-селекція продемонстру-

вала найвищу ефективність, оскільки стійкість до основних хвороб у пшениці, як правило, контролюється моногенно. Нещодавно ідентифіковані SNP, пов'язані з геном стійкості до стеблової іржі *Sr6* [56], виявлено гени-кандидати стійкості пшениці до листової іржі, смугастої іржі та плямистості [57], що контролюють стійкість пшениці до нематод [58] та озимої м'якої пшениці до сажки [56]. Загалом огляд літературних джерел показав, що з кожним роком розширюється спектр молекулярних маркерів до генів, які мають важливе господарське значення і можуть бути застосовані в селекції пшениці для ефективнішого добору генотипів із корисними властивостями.

Генно-інженерні маніпуляції підвищення стресостійкості пшениці.

Впровадження нових інструментів для секвенування значно полегшило дослідження геному пшениці. Серед багатьох стрес-індукованих генів виділено ті, продуктами яких є функціональні білки і ферменти, що безпосередньо захищають від негативного впливу навколишнього середовища (осмопротектори, шаперони, ферменти детоксикації та ін.). Крім того, біотехнологічні методи підвищення стійкості пшениці до дії несприятливих чинників довкілля та підвищення продуктивності мають ще один важливий пріоритет унаслідок використання транскрипційних факторів, які функціонують як основні регулятори генних мереж, що беруть участь у численних метаболічних/фізіологічних шляхах [23, 59, 60].

На сьогодні у пшениці ідентифіковано безліч генів-кандидатів, задіяних у реакції на абіотичний стрес, включно з генами з різних родин, таких як: *bZIP*, *CBL*, *CDPK*, *CIPK*, *NAC*, *SnRK2*, *WRKY* [61]. Понад 30 генів із них були трансформовані в модельні рослини, такі як арабідопсис і тютюн, в яких підвищена експресія генів *TaSnRK2.8*, *TaMYB33*, *TaPI4KIIgamma* (фосфатидилінозитол-4-кіназа), *TaGBF1* (фактори зв'язування G-боксу) і *TaNA2* показала, що всі вони здатні підвищувати стійкість до посухи й засолення [62]. Ектопічна експресія генів пшениці включно з *TaASR1*, *TaCIPK14*, *TaCIPK29*, *TaNHX3* надавала трансгенним рослинам тютюну стійкості до різних стресів, що заклало основу для створення нових сортів пшениці, стійких до абіотичних стресів [63, 64].

Транскрипційні фактори (TF), специфічно взаємодіють із відповідними *cis*-діючими елементами промоторів регуляторних генів та ініціюють функціонування останніх. У кінцевому підсумку це приводить до експресії структурних генів, які контролюють біосинтез поліпептидів білків, що беруть безпосередню участь у підтриманні життєздатності рослин у несприятливих умовах навколишнього середовища. У такій регуляторній системі TF розглядають як ключові посередники процесів адаптації/стійкості рослин. Специфічні для рослин TF включають родину факторів AP2/ERFBP із функціями реакції рослин на біотичний та абіотичний стреси. AP2/ERFBP TF поділено на 4 підгрупи залежно від їх подібності та кількості, а саме: TF ERF (ethylene-responsive transcription factor), DREB (dehydration responsive element binding protein), AP2 (apetala 2), RAV (related to ABI3/VP1). DREB і ERF — основні підродини, які більше вивчені в зв'язку з їх роллю в реакціях рослин на дію біотичних і абіотичних стресів [65, 66]. Транскрипційні фактори ERF включають гени етиленової від-

повіді, наприклад, ген *TaERF* сприяє розвитку стійкості до посухи в пшениці внаслідок підвищення рівня проліну і вмісту хлорофілу [67]. Білки, що зв'язують чутливі до дегідратації елементи (DREB), формують родину TF, зумовлюють експресію великої кількості функціональних генів, що надає рослинам стресостійкості. Транскрипційні фактори DREB1A і DREB2A в основному регулюють транскрипцію генів *RD17*, *KIN1*, *Cor6.6*, *Cor15a*, *ERD10*, *RD29A*, асоційованих із толерантністю до посухи та іншими абіотичними стресовими чинниками. Ці гени експресуються й за оптимальних умов, але за дії посухи і низької температури їхня експресія істотно підвищується.

Із використанням гена *TF DREB A. thaliana* як цільового отримано трансгенні рослини м'якої пшениці зі збільшеним вмістом проліну і, як наслідок, підвищеною посухостійкістю [68]. Надекспресія генів *TaDREB2* і *TaDREB3* у модифікованої пшениці також забезпечувала вищу стійкість до водного дефіциту й мінусових низьких температур [69]. Сприяв підвищенню стійкості рослин *Triticum aestivum* до водного дефіциту і функціональний трансген *DREB1A* [70]. Отримані методом мікробомбардування трансгенні рослини пшениці з інтродукованим геном *GhDREB* мали вищий рівень стійкості до водного дефіциту, засолення, мінусових низьких температур. При цьому накопичення в генетично модифікованих рослинах розчинних цукрів в умовах стресу підтримувало вищий рівень хлорофілу порівняно з нетрансгенними рослинами контрольного варіанта.

Для *Triticum aestivum* важливо зберігати стійкість до посухи як на початкових етапах росту (оскільки тоді закладається основа майбутнього врожаю), так і в пізніші періоди. У генетично змінених рослинах пшениці, в яких протягом вегетації інтенсивно накопичувалися власні білки транскрипційних факторів, підвищувався рівень стійкості до водного дефіциту, засолення та інших абіотичних стресів [71]. Стресіндуковані транскрипційні фактори можуть бути компонентами комплексних сигнальних мереж, що регулюють експресію стресових генів.

Сигнальна система АБК (ABA-responsive element binding proteins/factors), що накопичується за стресу, запускає безліч захисних фізіологічних механізмів у рослин пшениці за участю низки TF субродин AREB/ABF і MYC/MYB, які відіграють значну роль у реакції рослин на дію абіотичних і біотичних стресів. Зокрема, геном пшениці містить 60 генів, що кодують TFs субродини MYC, серед яких половина може бути пов'язана з абіотичними стресами [72]. Транскрипційні фактори WRKY також задіяні в АБК-залежних шляхах передачі сигналів у пшениці на дію абіотичних і біотичних стресів. Вони є позитивними регуляторами АБК-опосередкованого закриття продихів і беруть участь у відповіді рослин на дію водного дефіциту [73].

Особливу роль в АБК-залежній системі регулювання реакції *Triticum aestivum* на обмежений доступ води виконують гени HD-Zip-родини [74]. За дії АБК в умовах водного дефіциту і засолення в трансгенній пшениці надекспресія гена сої *GmbZIP1* також призводила до активації експресії генів, які контролюють закриття продихів і підвищення рівня стійкості до стресів [75]. Згідно з результатами досліджень, TF AP2/EREBP (ERF) задіяні як у АБК-залежних, так і

в незалежних сигнальних шляхах. Хоча вони є двома різними й автономними шляхами, між ними, ймовірно, існує певний перехресний зв'язок. Важливим є факт, що за умов посухи акцент зміщується в бік синтезу АБК для подальшої активації механізму стресової відповіді, при цьому знижується врожай зерна, тому необхідно встановлювати баланс між урожайністю та посухостійкістю пшениці [76].

Сигнальним факторам АБК при стресі піддаються й деякі консервативні miRNAs пшениці, які беруть участь у різних клітинних регуляторних механізмах, пов'язаних із посухою, включно з передачею сигналів ауксинів, антиоксидантним захистом, осмопротекцією, ростом клітин, диханням і фотосинтезом [77]. У рослин більшість генів, на експресію яких впливають мікроРНК, є генами транскрипційних факторів, тому діапазон їхньої активності дуже широкий, вони регулюють цілу мережу генів під час ембріогенезу, впливають на експресію головних регуляторних генів включно з факторами транскрипції. Так, miR159, miR164, miR393 у пшениці регулюють експресію цільових TF/генів і відіграють ключову роль у механізмі стійкості до посухи [78]. Більшість мікроРНК мають свої конкретні передбачувані мішені, які приводять до регуляції специфічних генів/TF, залучених до механізмів передачі сигналів толерантності [79]. Посилення захисних реакцій рослин пшениці супроводжується модуляціями їхнього метаболізму. Загальні метаболічні зміни: інгібування фотосинтезу, збільшення гетеротрофності, синтез вторинних метаболітів сприяють формуванню захисних бар'єрів та активації ефективних рослинних імунних реакцій.

Низькомолекулярні вуглеводи, такі як сахароза, глюкоза, фруктоза та інші, сприяють різним фізіологічним процесам і необхідні як субстрат та сигнал при захисних реакціях рослин пшениці [80]. Успішними були спроби підвищити рівень посухостійкості пшениці з використанням гена, що кодує транспортер сахарози *TaSUT1*. За допомогою біобалістичної трансформації отримано трансгенні лінії *Triticum aestivum* поколінь T0–T4, в яких під дією ПЕГ посилювалась експресія *TaSUT1* в коренях і стеблах. Надекспресія *TaSUT1* значно поліпшувала стійкість до посухи генетично модифікованої пшениці, при цьому інтенсивність проростання насіння на стресовому фоні становила 85,5 %, що істотно перевищувало показники контрольного варіанта [81]. Позитивно регулював адаптивну реакцію на абіотичні стреси ген *TaERF3*. У трансгенних ліній *Triticum aestivum* з надекспресією цього гена стійкість проростків до впливів засолення і посухи була значно підвищена [82]. Крім того, індукований вірусом мозаїки ячменю сайленсинг гена *TaVTF3* у рослин пшениці знижував стійкість до вимерзання й посухи [83]. З метою модифікації стійкості в генетичній інженерії *Triticum aestivum* використовують також **гени антиоксидантних ферментів**. Для адаптації рослин до дії абіотичних стресорів, зокрема до засолення та дії ультрафіолетового випромінювання, отримують трансгенні рослини зі зміненою експресією генів, що кодують антиоксидантні ферменти або ферменти біосинтезу й катаболізму низькомолекулярних антиоксидантів. Обнадійливі результати на пшениці отримано в результаті перенесення

генів, що кодують C_4 -специфічні ферменти, фосфоенолпіруваткарбоксілазу (PEPC) та піруватортофосфатдікіназу (PPDK) [84]. Створено генетично змінені рослини *Triticum aestivum* з надекспресією генів PEPC і PPDK як окремо, так і одночасно в одних і тих самих трансгенних лініях та встановлено їхній позитивний синергічний ефект на характеристики фотосинтезу і продуктивність. У подальшому було показано, що крім підвищення врожайності рослини мали поліпшену стійкість до посухи, пов'язану зі збільшеною експресією генів, які беруть участь у фотосинтезі та метаболізмі білків [85]. Вищу врожайність зерна в генетично модифікованій пшениці в умовах посухи спостерігали і в рослин з надекспресією гена PEPC кукурудзи [86].

Значну увагу при розробці молекулярних біотехнологій *Triticum aestivum* учені приділяють надлишковим **білкам пізнього ембріогенезу (LEA)**. LEA — еволюційно-консервативна група гідрофільних низькомолекулярних білків, збагачених гліцином. Експресія генів LEA відбувається у відповідь на різні абіотичні стреси (водний дефіцит, холод, засолення) та на екзогенне застосування АБК. Вони відіграють важливу роль при дегідратації, заважають агрегації білків, виявляють антиоксидантну активність разом із передбачуваною роллю їх як шаперонів. За трансформування гена *HVA1*, який кодує LEA-білок у рослинах ячменю, в геном ярої пшениці в трансформантів спостерігали підвищений рівень толерантності до водного дефіциту. Так, у польових умовах за показниками продуктивності, загальної біомаси, висоти рослин вони перевершували контрольні [87].

Великий інтерес фахівців у галузі селекції пшениці на стійкість до осмотичних стресів викликають **гени, що контролюють метаболізм «сумісних осмолітів»**. Серед них гени ферментів синтезу ($\Delta 1$ -піролін-5-карбоксилатсинтетаза, *P5CS*) та катаболізму (проліндегідрогеназа, *PDH*) амінокислоти *L*-проліну (Pro). Пролін має високий осмотичний потенціал і навіть за значних концентрацій не порушує структуру інших біологічних молекул. Оскільки більшість несприятливих впливів призводить до осмотичного дисбалансу та генерування вільних радикалів, вміст Pro є одним із чинників, що визначають специфічну стійкість до дії стресу багатьох видів рослин, у тому числі й пшениці.

Крім того, розвивається також уявлення про пролін як про поліфункціональну регуляторну амінокислоту, що бере участь у складних інтегральних процесах стійкості [27, 88]. Підвищений рівень стійкості до водного дефіциту, що супроводжувався акумуляцією вільного Pro, виявлено у трансгенних рослин *Triticum aestivum*, що містять додаткову копію гена синтезу проліну *P5CS* [23, 89]. Цікавою є розробка молекулярних біотехнологій із маніпуляцією генами катаболізму проліну. В результаті інтерференції РНК гена проліндегідрогенази акумуляція вільного *L*-проліну за стресу може приводити до підвищення рівня стійкості рослин. Результати виконаних нами досліджень із використанням конструкцій, що впливають на ендогенні гени метаболізму Pro, також підтвердили зміну стійкості пшениці озимої, що виявлялась у підвищенні показників продуктивності в

умовах водного дефіциту [90, 91]. Відносно невелике збільшення вмісту вільного *L*-проліну в трансформантах із супресованою ПДГ може виявитися важливим на перших етапах стресового впливу [92], оскільки виживання рослини на початку стресу без акліматції часто визначається швидкістю вмикання захисних механізмів. Якщо рослина вже містить деяку додаткову кількість захисного агента широкого спектра дії (проліну), це може надати додаткову стійкість системам, що відповідають за стресову відповідь: наприклад, захистити базові ферменти транскрипції і трансляції від інгібування, забезпечити первинний синтез стресових білків. Про перспективність підвищення стійкості пшениці до дії стресових чинників за збільшення вмісту Про свідчать вищі показники росту генетично змінених рослин в умовах водного дефіциту в результаті РНК-інтерференції гена проліндегідрогенази [90].

РНК-інтерференція сьогодні стає важливим регулятором активності генів *Triticum aestivum*. Першим геном пшениці, механізм інтерференції якого в трансгенних рослинах дав змогу впливати на регулювання періоду цвітіння, був ген яровизації *TaVRN2*. Ці дослідження істотно розширили розуміння молекулярних механізмів періоду цвітіння і потреб у яровизації пшениці [93]. Втім донедавна основне застосування технології RNAi для *Triticum aestivum* полягало у боротьбі з хвороботворними мікроорганізмами та шкідниками з використанням індукованих вірусом і хазяїном платформ глушіння генів [34]. Спричинений вірусом смугастої мозаїки ячменю (BSMV) сайленсинг гена (VIGS) *TaBTF3* у рослинах пшениці знизив стійкість до вимерзання та посухи. У трансгенних ліній пшениці з надекспресією гена *TaERF3* стійкість проростків до засолення і посухи була значно підвищена, тоді як пригнічення активності *TaERF3* зумовлювало більшу чутливість рослин до осмотичних стресів. Це дало можливість встановити, що *TaERF3* позитивно регулює адаптаційні реакції пшениці на стреси, викликані дією цих чинників [82]. При визначенні поліморфізму гена *TaGW2-A*, який пов'язаний із розміром зерна, зокрема його шириною, в геномах пшениці А, В і D, використовували РНК-інтерференцію для пригнічення рівнів транскрипту *TaGW2*. Трансгенні лінії *Triticum aestivum* мали значно менші розміри зерна порівняно з контрольним. Крім того, пригнічення *TaGW2* також спричинювало значне зменшення кількості клітин ендосперму. Ці результати підтвердили, що експресія гена *TaGW2* впливає на регулювання розміру зерна і може бути важливим інструментом підвищення врожайності [94].

Використання механізму РНК-інтерференції відкриває перспективні шляхи для отримання сортів пшениці з неалергенними властивостями. RNAi використовували для пригнічення експресії ω -гліадинів. У трансгенних ліній пшениці, дефіцитних за ω -гліадинами, не виявлено змін у структурі інших зернових білків, зафіксовано поліпшені властивості тіста [95]. Аналіз білків генетично модифікованих сортів *Triticum aestivum* показав, що сайленсинг генів α -, β -, ω -гліадинів і низькомолекулярних глютенінів призводив до повної відсутності імуногенних речовин у трансгенних лініях [96]. РНК-інтерференція гена міозину-5 (*FaMyo5*) забезпечувала стійкість пшениці до

Fusarium asiaticum [97]. Пшениця, трансформована вектором, що експресує дволанцюгову РНК, спрямовану на ген протейнінази (*PsFUZ7*), з *Puccinia striiformis*, характеризувалась стійкістю до смугастої іржі [98].

Ми та інші автори набули позитивного досвіду з введення конструкції, яка містить длРНК-супресор гена проліндегідрогенази в геном рослин ярої та озимої пшениці [90, 91]. У результаті це привело до отримання генетично змінених рослин зі збільшеним вмістом вільного *L*-проліну в 1,5—4,0 раза, які відрізнялися від контрольних рослин більшою толерантністю до абіотичних стресів.

Поліпшення культури пшениці геномним редагуванням. Розробка інноваційних інструментів для генерування мутацій у певних генетичних локусах є складною для зміни геному пшениці в зв'язку з необхідністю проектування конструкцій з ДНК-розпізнавальним білковим доменом, який має бути спеціально адаптований для кожної ДНК-мішені. Редагування геному *Triticum aestivum* потребує ефективного й точного методу виявлення мутацій, що відбуваються в геномах А, В і D. З впровадженням технології CRISPR/Cas9 (бактеріальні кластерні регулярні міжпросторові короткі паліндромні повтори) методика редагування геному еукаріотів була докорінно змінена, оскільки ферменти Cas9 можуть бути перепрограмовані для націлювання на бажану послідовність і забезпечують мутагенез цільового гена, що особливо важливо для складного геному пшениці. Крім того з використанням системи CRISPR/Cas9 можна цілеспрямовано змінювати одночасно кілька генів за допомогою однієї молекулярної конструкції [39, 98].

Серед злакових культур можливість використання системи редагування генів CRISPR/Cas вперше була продемонстрована саме на пшениці *T. aestivum* [99]. Однак це дослідження обмежувалося сайт-спрямованим мутагенезом у клітинній суспензії, з якої неможливо відновити рослини. Мутації були виявлені в 18—22 % секвенованих ампліконів, що походять із цільових ділянок генів інозитоксигенази (*TaINOX*) та фітоендесатурази (*TaPDS*). У цій роботі вперше показано, що систему CRISPR/Cas можна успішно застосовувати для редагування великих геномів рослин.

На сьогодні однією з найпоширеніших галузей застосування CRISPR/Cas для цілеспрямованого інгібування генів є підвищення стійкості *Triticum aestivum* до впливу фітопатогенів. Це пов'язано з їхньою моногенною природою, і мішенями в цьому разі є певні гени, що зумовлюють чутливість до хвороб. Першим успішним результатом на пшениці було редагування *TaMLO* (mildew-resistance loci) — локусу стійкості до борошнистої роси. Так, нокаут гена *TaMLO-A1* дав змогу підвищити стійкість пшениці до неї. Крім того, зміна алеля *TaMLO-A1* за допомогою системи CRISPR/Cas9 і одночасне редагування трьох гомологічних алелів *TaMLO* в гексаплоїдній пшениці з використанням нуклеази TALEN показали, що частота мутацій *TaMLO* генетично зміненої пшениці була однаковою для обох методів [100]. Для редагування генів, пов'язаних із чутливістю до патогенів, які викликають зараження *Triticum aestivum* борошнистою росою, також здійснювали нокаут генів *EDR1* (enhanced disease

resistance1). Стійкість рослин пшениці до зараження досягалася при редагуванні відразу трьох гомеологічних копій *EDR1* [101]. Щодо стійкості до *Fusarium* — одного з найшкідливіших збудників грибних хвороб пшениці, увагу приділяли зміні генів ліпоксигенази, *TaLpx1* і *TaLox2*. Вони гідролізують поліненасичені жирні кислоти, ініціюють біосинтез оксиліпінів, сприяють активації захисних реакцій [102]. Здатність ендонуклеази Cas повністю усувати функцію гена здається особливо привабливою, коли йдеться про створення сільськогосподарських культур без токсичних, канцерогенних, алергенних чи неприємних на смак продуктів або метаболітів. Унаслідок цільового редагування генів синтезу α -гліадину одночасно кількома групами було отримано мутантні форми *Triticum aestivum* зі зниженим вмістом алергенів у зерні [103, 104]. Виробництво пшениці з клейковиною, в якій різко знижена частка імунодомінантних гліадинів, є перспективним у цьому відношенні.

Секвенування геному пшениці, ідентифікація і встановлення первинної структури генів відкрили можливість застосування сайт-спрямованого мутагенезу і для регулювання активності генів, що контролюють господарсько-цінні ознаки. Успішно здійснено мутагенез гена *PM19*, який у пшениці бере участь у встановленні тривалості періоду спокою зерна. Нецільовий нокаут його високогомологічних копій відбувався за наявності однієї розбіжності між напрямною РНК і послідовністю гена [105].

У результаті редагування генів, що регулюють розмір зерна (*CKX2-1*, *GLW7*, *GW2*, *GW8*), отримано мутанти з підвищеними показниками продуктивності пшениці, а саме числом зерен у колосі, та лінії пшениці з втратою функції генів *Qsd1-A1*, *-B1* і *-D1*, які є регуляторами періоду спокою насіння. Рослини з редагованим геномом мали триваліший період спокою насіння, ніж дикий тип, що можна використати для зниження проростання зерна на пні [106]. Збільшення розмірів зернівки і показника маси тисячі зернин *Triticum aestivum* вдалося досягти при внесенні мутацій у гомеологічні копії генів *GW2*, які є негативними регуляторами цих ознак. За допомогою РНК-керowanego Cas9 було створено нокаут-мутанти для всіх трьох субгеномів пшениці. Генерували всі можливі комбінації гомоалелів, що мутували шляхом схрещування. Нокаут окремих гомологів *TaGW2* збільшував розміри зерна пшениці, а також масу тисячі зернин. У результаті, автори дійшли висновку про адитивний ефект усіх трьох гомологів [107]. При редагуванні гена *CKX2-1*, який також є негативним регулятором ознаки кількості зернин у колосі, вдалося збільшити цей показник продуктивності пшениці [38]. Перспективними генами-мішенями за такого типу модифікації в *Triticum aestivum* були негативні регулятори росту, втрата функціональності яких здатна підвищувати продуктивність рослин. Збільшити масу зерна гексаплоїдної й тетраплоїдної пшениць вдалося відключенням відповідно трьох і двох гомологічних копій гена *GASR7* (негативний регулятор маси зерна). Збільшення маси зерна і підвищена озерненість потребують стійкості до вилягання, що забезпечується низькорослістю або міцністю стебла. У пшениці вдалося знизити висоту рослин унаслідок нокауту гена *DEP1* [108].

Хоча стійкість до посухи й підвищених температур є складними полігенними ознаками, на які впливають взаємодія генотипу із середовищем, є повідомлення про успіх методу CRISPR/Cas9 при редагуванні в протопластах *Triticum aestivum* таких генів, як *TaDREB2* і *TaERF3*, які контролюють стресову реакцію. Проведено цільове редагування генів фактора транскрипції, чутливого до стресу білка *TaDREB2* і фактора *TaERF3*, що реагує на етилен у пшениці. За допомогою тимчасової експресії невеликих напрямних РНК і білка Cas9 у протопласті *Triticum aestivum* показано, що генетично змінені рослини мали підвищену стійкість до посухи порівняно з вихідними формами. Ефективність мутагенезу підтверджена аналізом розщеплення рестриктазою, аналізом ендонуклеази T7 і секвенуванням близько 70 % трансформованих протопластів [39].

З метою підвищення стійкості до посухи та ефективного використання води систему CRISPR/Cas9 успішно застосовують для редагування гомолога гена пшениці *TaCer9* (ECERIFERUM9). Мутація гена *Cer9*, що кодує убіквітинлігазу, зумовлює збільшення кількості кутинових мономерів у кутикулярному восковому нальоті, товщини оболонки кутикули, підвищує посухостійкість рослин [108]. CRISPR стає незамінним інструментом у біологічних дослідженнях. Програмована функціональність ферменту Cas9, відомого як бактеріальна імунна система проти вірусів, тепер докорінно змінює різні галузі біотехнології, сільського господарства й найважливіших медичних досліджень.

Отже, огляд сучасної літератури підтвердив, що сьогодні проводиться ґрунтовна робота з вирішення проблем, які обмежують урожайність пшениці, серед яких стійкість до осмотичних стресів і хвороб є найважливішими селекційними завданнями. Прогнозується, що в XXI ст. середня температура повітря може зрости від 2 до 4,5 °С, а проміжок часу між XIX і XXI століттями буде періодом найсильнішого потепління. Такі кліматичні зміни стануть катастрофічними для більшості видів сільськогосподарських культур, у тому числі вплинуть на урожайність пшениці. Складність генетичної зумовленості стійкості *Triticum aestivum* до посухи, яка сьогодні стала головною загрозою для міжнародної продовольчої безпеки, обмежує можливості традиційної селекції зі створення посухостійких сортів і потребує розвитку нових прогресивних методів біотехнології. Аналіз сучасної літератури показав, що цій проблемі приділяється найбільша увага. З розвитком функціональної геноміки виявлено багато нових генів, пов'язаних із толерантністю пшениці до осмотичних стресів. Показано, що рівень стійкості *Triticum aestivum* до дії посухи можуть підвищувати різні гени, фактори транскрипції, мікроРНК, гормони, білки, кофактори і метаболіти. Досягнення в галузі MAS, картування QTL, трансгенної техніки, механізму RNAi, системи редагування геному мають вирішальне значення і для поліпшення цінних агрономічних ознак. На сьогодні важливо, щоб результати молекулярних досліджень і генетичних маніпуляцій були задіяні в програмах традиційної селекції пшениці для інтрогресії корисних генетичних ознак у польових умовах.

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Shewry P.R. Wheat. *J. Exp. Bot.* 2009. **60**. P. 1537—1553.
2. Моргун В.В., Дубровна О.В., Моргун Б.В. Сучасні біотехнології отримання стійких до стресів рослин пшениці. *Фізіологія рослин і генетика*. 2016. **48**, № 3. С. 196—213.
3. http://www.ukrstat.gov.ua/operativ/operativ2019/sg/ovuzpsg/Arh_ovuzpsg_2019_u.html
4. Aggarwal P.K. Global climate change and Indian agriculture: Impacts, adaptation and mitigation. *Indian. J. Agr. Sci.* 2008. **78**. P. 911—919.
5. Rezaei E.E., Siebert S., Manderscheid R., Muller J., Mahrookashani A., Ehrenpfordt B., Haensch J., Weigeld H.-J., Ewert F. Quantifying the response of wheat yields to heat stress: The role of the experimental setup. *Field Crops Res.* 2018. **217**. P. 93—103. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2017.12.015>
6. Balla K., Karsai I., Bynis P., Kiss T., Berki Z., Horváth B., Mayer M., Bencze S., Veisz O. Heat stress responses in a large set of winter wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.) depend on the timing and duration of stress. *PLoS One*. 2019. **14**. P. e0222639
7. Raza A., Razzaq A., Mehmood S.S., Zou X., Zhang X., Lv Y., Xu J. Impact of climate change on crops adaptation and strategies to tackle its outcome: A review. *Plants*. 2019. **8**. P. 34. <https://doi.org/10.3390/plants8020034>
8. Soba D., Ben Mariem S., Fuertes-Mendizábal T., Mendez-Espinoza A.M., Gilard F., González-Murua C., Irigoyen J.J., Tcherkez G., Aranjuelo I. Metabolic effects of elevated CO₂ on wheat grain development and composition. *J. Agric. Food. Chem.* 2019. **67**. P. 8441—8451.
9. Brown L. The great food crisis of 2011. *Foreign Policy*. 2011. **10**. P. 1—5. Available at: http://www.earthpolicy.org/plan_b_updates/2011/update90
10. Bowne J.B., Erwin T.A., Juttner J., Schnurbusch T., Langridge P., Bacic A., Roessner U. Drought responses of leaf tissues from wheat cultivars of differing drought tolerance at the metabolite level. *Mol. Plant*. 2012. **5**. P. 418—429. <https://doi.org/10.1093/mp/ssr114>
11. Sallam A., Mourad A.M.I., Hussain W., Baenziger S.P. Genetic variation in drought tolerance at seedling stage and grain yield in low rainfall environments in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Euphytica*. 2018. **214**. 169 p. <https://doi.org/10.1007/s10681-018-2245-9>
12. Ahmed H.G.M.D., Li M., Khan S.H., Kashif M. Early selection of bread wheat genotypes using morphological and photosynthetic attributes conferring drought tolerance. *J. Integrat. Agric.* 2019. **18**. P. 2483—2491.
13. Рибалка О.І. Якість пшениці та її поліпшення. Київ: Логос, 2011. 495 с.
14. Сиволап Ю.М. Молекулярные маркеры и селекция. *Цитология и генетика*. 2013. **47**, № 3. С. 71—80.
15. Khan H. Genetic improvement for end-use quality in wheat. Springer Nature Switzerland. 2019. 253 p.
16. Miedaner T., Korzun V. Marker-assisted selection for disease resistance in wheat and barley breeding. *Phytopathology*. 2012. **102**. P. 560—566.
17. Козуб Н.О., Созінов І.О., Карелов А.В., Блюм Я.Б., Созінов О.О. Різноманітність українських сортів пшениці м'якої озимої за локусами запасних білків та молекулярними маркерами генів стійкості до хвороб. *Цитология и генетика*. 2017. **51**, № 2. P. 59—73.
18. Моргун В.В., Рибалка О.І. Стратегія генетичного поліпшення зернових злаків з метою забезпечення продовольчої безпеки, лікувально-профілактичного харчування та потреб переробної промисловості. *Вісник НАН України*. 2017. **128**, № 3. С. 54—64. <https://doi.org/10.15407/visn2017.03.054>
19. Matthies I.E., Malosetti M., Röder M.S. Genome-wide association mapping for kernel and malting quality traits using historical european barley records. *PLOS One*. 2014. **9**, N 11. P. 112—119. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.01110046>
20. Khan M.K., Pandey A., Choudhary S., Saumya Choudhary, Hakki E.E., Akkaya M.S., Thomas G. From RFLP to DArT: molecular tools for wheat (*Triticum* spp.) diversity analysis. *Genet. Resour. Crop. Evol.* 2014. **61**. P. 1001—1032. <https://doi.org/10.1007/s10722-014-0114-5>

21. He J., Zhao X., Laroche A., Lu Z.-H., Liu H., Li Z. Genotyping-by-sequencing (GBS), an ultimate marker — assisted selection (MAS) tool to accelerate plant breeding. *Front Plant Sci.* 2014. **5**. P. 1—8. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00484>
22. Гулаєва Н.В., Чесноков Ю.В., Шевченко С.Н., Зуєва А.А., Менибаєв А.И. Практическое применение молекулярных маркеров в селекции пшеницы. *Известия Самарского научного центра Российской академии наук.* 2018. **20**, № 2 (4). С. 726—731.
23. Моргун Б.В., Тищенко Е.Н. Молекулярные биотехнологии по повышению устойчивости культурных злаков к осмотическим стрессам. Киев: Логос. 2014. 218 с.
24. Shrawat A.K., Armstrong C.L. Development and application of genetic engineering for wheat improvement. *Critical Reviews in Plant Sciences.* 2018. **37**, N 5. P. 335—421.
25. Cheng M., Fry J.E., Pang S., Zhou H., Hironaka C.M., Duncan D.R., Conner T.W., Wan Y. Genetic transformation of wheat mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. *Plant Physiol.* 1997. **115**. P. 971—980.
26. Дубровна О.В., Моргун Б.В. Сучасний стан досліджень *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації пшениці. *Фізіологія рослин і генетика.* 2018. **50**, № 3. С. 187—217. <https://doi.org/10.11144/javeriana.sc23-1.amto>
27. Сергеева Л. Е., Михальская С.И., Комисаренко А.Г. Современные биотехнологии повышения устойчивости растений к осмотическим стрессам. Киев: Кондор, 2019. 161 с.
28. Wang K., Riaz B., Ye X. Wheat genome editing expedited by efficient transformation techniques: progress and perspectives. *The Crop Journal.* 2018. **6**, N 1. P. 22—31.
29. Hensel G., Marthe C., Kumlehn J. *Agrobacterium*-mediated transformation of wheat using immature embryos. Wheat Biotechnology. Bhalla P., Singh M. (Eds.). *Methods in Molecular Biology.* 2017. **1679**. P. 129—139.
30. Supartana P., Shimizu T., Nogawa M., Shioiri H., Nakaqima T., Haramoto N., Nozue M., Koqima M. Development of simple end efficient in Planta transformation method for wheat (*Triticum aestivum* L.) using *Agrobacterium tumefaciens*. *J. Biosci. Bioeng.* 2006. **102**, N 3. P. 162—170.
31. Chumakov M.I., Moiseeva E.M. Technology of agrobacterial transformation of plants in planta. *Biotechnology.* 2012. **1**. P. 8—20.
32. Михальська С.І., Комісаренко А.Г., Курчій В.М., Тищенко О.М. Генетична трансформація in planta пшениці озимої (*Triticum aestivum* L.). *Фактори експериментальної еволюції організмів.* 2018. **22**. С. 293—299.
33. Curaba J., Singh M.B., Bhalla P.L. miRNAs in the crosstalk between phytohormone signalling pathways. *J. Exp. Bot.* 2014. **65**. P. 1425—1438. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru002>
34. Budak H., Khan Z., Kantar M. History and current status of wheat miRNAs using next-generation sequencing and their roles in development and stress. *Brief. Funct. Genomics.* 2015. **14**. P. 189—198. <https://doi.org/10.1093/bfpg/elu021>
35. Zhao X.Y., Hong P., Wu J.Y., Chen X.B., Ye X.G., Pan Y.Y., Wang J., Zhang X.S. The tae-miR408-mediated control of TaTOC1 genes transcription is required for the regulation of heading time in wheat. *Plant Physiology.* 2016. **170**. P. 1578—1594.
36. Моргун В.В., Дубровна О.В., Моргун Б.В. Отримання стійких до стресів рослин пшениці біотехнологічними методами. *Фізіологія рослин: досягнення та нові напрями розвитку.* Київ: Логос, 2017. С. 393—412.
37. Demirci Y., Zhang B., Unver T. CRISPR/Cas9: an RNA-guided highly precise synthetic tool for plant genome editing. *J. Cellular Physiol.* 2018. **233**, N 3. P. 1844—1859.
38. Zhang Z., Hua L., Gupta A., Tricoli D., Edwards K.J., Yang B., Li W. Development of an *Agrobacterium*-delivered CRISPR/Cas9 system for wheat genome editing. *Plant Biotechnol. J.* 2019. **17**, N 8. P. 1623—1635. <https://doi.org/10.1111/pbi.13088>
39. Kim D., Alptekin B., Budak H. CRISPR/Cas9 genome editing in wheat. *Funct Integr Genomics.* 2018. **18**. P. 31—41. <https://doi.org/10.1007/s10142-017-0572-x>
40. Barlow K.M., Christy B.P., O'Leary G.J., Riffkin P.A., Nuttall J.G. Simulating the impact of extreme heat and frost events on wheat crop production: A review. *Field Crops Research.* 2015. **171**. P. 109—119.
41. Hussain B. Modernization in plant breeding approaches for improving biotic stress resistance in crop plants. *Turk. J. Agric. For.* 2015. **39**. P. 515—530. <https://doi.org/10.3906/tar-1406-176>

42. Ahmad M., Zaffar G., Razvi S.M., Dar Z.A., Mir S.D., Bukhari S.A., Habib M. Resilience of cereal crops to abiotic stress: a review. *African. J. Biotechnol.* 2014. **13**, N 29. P. 2908—2921. <https://doi.org/10.5897/AJBX2013.13532>
43. Ren J., Chen L., Sun D., You F. M., Wang J., Peng Y., Nevo E., Beiles A., Sun D., Luo M.C., Pend J. SNP-revealed genetic diversity in wild emmer wheat correlates with ecological factors. *BMC Evol. Biol.* 2013. **13**. P. 169. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-13-169>
44. Sukumaran S., Reynolds M.P., Sansaloni C. Genome-wide association genome-wide association analyses identify QTL hotspots for yield and component traits in durum wheat grown under yield potential, drought and heat stress environments. *Front. Plant Sci.* 2018. **9**. P. 1—16. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00081>
45. Ayalew H., Liu H., Borner A., Kobiliski B., Liu C., Yan G. Genome-wide association mapping of major root length QTLs under PEG induced water stress in wheat. *Front. Plant Sci.* 2018. **9**. P. 1—9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01759>
46. Liu Y., Liu Y., Zhang Q., Xie C., Li H., Xia X., He W., Qin Y. Genome wide association analysis of quantitative trait loci for salinity tolerance related morphological indices in bread wheat. *Euphytica.* 2018. **214**. P. 176. <https://doi.org/10.1007/s10681-018-2265-5>
47. Garg D., Sareen S., Dalal S., Tiwari R. Heat shock protein based SNP marker for terminal heat stress in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Aust. J. Crop. Sci.* 2012. **6**, N 11. P. 1516—1521.
48. Хохлова Л.П. Экспрессия генов стрессовых белков и идентификация молекулярных маркеров устойчивости растений к повышенным температурам и засухе. 2016. 158, кн. 2. С. 225—238. <https://doi.org/10.26907/2542-064X>.
49. Kochevenko A., Jiang Y., Seiler C., Surdonja K., Kollers S., Reif J.C., Korzun V., Graner A. Identification of QTL hot spots for malting quality in two elite breeding lines with distinct tolerance to abiotic stress. *BMC Plant Biol.* 2018. **18**. P. 106.
50. Tahmasebi S., Heidari B., Pakniyat H., McIntyre C.L. Mapping QTLs associated with agronomic and physiological traits under terminal drought and heat stress conditions in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Genome.* 2016. **60**. P. 26—47.
51. Merchuk-Ovnat L., Barak V., Fahima T., Ordon F., Lidzbarsky G.A., Krugman T., Saranga Y. Ancestral QTL alleles from wild emmer wheat improve drought resistance and productivity in modern wheat cultivars. *Front. Plant Sci.* 2016. **7**. P. 452. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00452>
52. Liu J., Xu Z., Fan X., Zhou Q., Cao J., Wang F., Ji G., Yang Li., Feng Bo., Wang Tao. A genome wide association study of wheat spike related traits in China. *Front. Plant Sci.* 2018. **9**. P. 1—14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01584>
53. Wang S., Zhu Y., Zhang D., Shao H., Liu P., Hu J.B., Zhang H., Zhang H.P., Chang C., Lu J., Xia X.-C., Sun G.L., Ma C.X. Genome-wide association study for grain yield and related traits in elite wheat varieties and advanced lines using SNP markers. *PLoS One.* 2017. **12**. P. 1—14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0188662>
54. Garcia M., Eckermann P., Haefele S., Satija S. Genome-wide association mapping of grain yield in a diverse collection of spring wheat (*Triticum aestivum* L.) evaluated in southern Australia. *PLoS One.* 2019. **14**. P. 1—19. <https://doi.org/10.25909/5becfa45c176f>
55. Daba S.D., Tyagi P., Brown-Guedira G., Mohammadi M. Genome-wide association studies to identify loci and candidate genes controlling kernel weight and length in a historical United States wheat population. *Front. Plant Sci.* 2018. **9**. P. 1—14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01045>
56. Mourad A.M.I., Sallam A., Belamkar V., Wegulo S., Bowden R., Jin Y., Mandy E., Bakheit B., El-Wafaa A., Poland J., Baenziger P. Genome-wide association study for identification and validation of novel SNP markers for Sr6 stem rust resistance gene in bread wheat. *Front. Plant Sci.* 2018. **9**. P. 1—12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00380>
57. Eltaher S., Sallam A., Belamkar V., Emara H., Nower A., Salem K., Poland J., Baenziger P. Genetic diversity and population structure of F3:6 Nebraska winter wheat genotypes using genotyping-by-sequencing. *Front. Genet.* 2018. **9**. P. 76. <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00076>
58. Ando K., Rynearson S., Muleta K.T., Gedamu J., Girma B., Bosque-Perez N.A., Chen M.S., Mike O. Pumphrey Genome-wide associations for multiple pest resistances in a

- Northwestern United States elite spring wheat panel. *PLoS One*. 2018. **13**, N 2:e0191305. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0191305>
59. Wang X.T., Zeng J., Li Y., Rong X.L., Sun J.T., Sun T. Expression of TaWRKY44, a wheat WRKY gene, in transgenic tobacco confers multiple abiotic stress tolerances. *Front. Plant Sci.* 2015. **6**. P. 61. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00615>
 60. Тищенко О.М., Михальська С.І. Транскрипційні фактори NAC-субродини у підвищенні рівня стійкості культурних рослин до осмотичних стресів. *Физиология растений и генетика*. 2017. **49**, № 3. С. 211–217.
 61. Niu C.F., We W., Zhou Q.Y., Tian A.G., Hao Y.J., Zhang W. Wheat WRKY genes TaWRKY2 and TaWRKY19 regulate abiotic stress tolerance in transgenic *Arabidopsis* plants. *Plant Cell Environ.* 2012. **35**, N 6. P. 1156–1170. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2012.02480.x>
 62. Qin Y.X., Wang M.C., Tian Y.C., He W.X., Han L., Xia G.M. Over-expression of TaMYB33 encoding a novel wheat MYB transcription factor increases salt and drought tolerance in *Arabidopsis*. *Mol. Biol. Rep.* 2012. **39**, N 6. P. 7183–7192. <https://doi.org/10.1007/s11033-012-1550-y>
 63. Deng X.M., Zhou S.Y., Hu W., Feng J.L., Zhang F., Chen L.H., Huang C., Luo Q., He Y., Yang G., He G. Ectopic expression of wheat TaCIPK14, encoding a calcineurin B-like protein-interacting protein kinase, confers salinity and cold tolerance in tobacco. *Physiol. Plant.* 2013. **149**, N 3. P. 367–377. <https://doi.org/10.1111/ppl.12046>
 64. Hu W., Huang C., Deng X.M., Zhou S.Y., Chen L.H., Li Y., Wang C., Ma Z., Yuan Q., Wang Y., Cai R., Liang X., Yang G., He G. TaASR1, a transcription factor gene in wheat, confers drought stress tolerance in transgenic tobacco. *Plant Cell Environ.* 2013. **36**, N 8. P. 1449–1464. <https://doi.org/10.1111/pce.12074>
 65. Licausi F., Giorgi F.M., Zenoni S., Osti F., Pezzotti M., Perata P. Genomic and transcriptomic analysis of the AP2/ERF superfamily in *Vitis vinifera*. *BMC Genom.* 2010. **11**. P. 719. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-11-719>
 66. Sharoni A.M., Nuruzzaman M., Satoh K., Shimizu T., Kondoh H., Sasaya T., Choi I.-R., Omura T., Kikuchi S. Gene structures, classification and expression models of the AP2/EREBP transcription factor family in rice. *Plant Cell Physiol.* 2010. **52**. P. 344–360.
 67. Rong W., Qi L., Wang A.Y., Ye X.G., Du L., Liang H.X., Xin Z., Zhang Z. The ERF transcription factor TaERF3 promotes tolerance to salt and drought stresses in wheat. *Plant Biotechnol J.* 2014. **12**, N 4. P. 468–479. <https://doi.org/10.1111/pbi.12153>
 68. Jun-Wei W., Feng-Ping Y., Xu-Qing C., Liang R.Q., Zhang L.Q., Geng D.M., Zhang X.D., Song Y.Z., Zhang G.S. Induced expression of DREB transcription factor and study on its physiological effects of drought tolerance in transgenic wheat. *Acta Genetica Sinica*. 2006. **33**, N 5. P. 468–476. [https://doi.org/10.1016/S0379-4172\(06\)60074-7](https://doi.org/10.1016/S0379-4172(06)60074-7)
 69. Morran S., Eini O., Pyvovarenko T., Parent B., Singh R., Ismagul A., Eliby S., Shirley N., Langridge P., Lopato S. Improvement of stress tolerance of wheat and barley by modulation of expression of DREB/CBF factors. *Plant Biotechnol. J.* 2011. **9**, N 2. P. 230–249.
 70. Pellegrineschi A., Reynolds M., Pacheco M., Brito R.M., Almeraya R., Yamaguchi-Shinozaki K., Hoisington D. Stress-induced expression in wheat of the *Arabidopsis thaliana* DREB1A gene delays water stress symptoms under greenhouse conditions. *Genome*. 2004. **47**. P. 493–500. <https://doi.org/10.1139/g03-140>
 71. Xue G.-P., Way H.M., Richardson T., Drenth J., Joyce P.A., McIntyre C.L. Over-expression of TaNAC69 Leads to Enhanced Transcript Levels of Stress Up-Regulated Genes and Dehydration Tolerance in Bread Wheat. *Molecular. Plant.* 2011. **5**. P. 1–16. <https://doi.org/10.1093/mp/ssr013>
 72. Zhang L., Zhao G., Jia J., Liu Xu., Kong X. Molecular characterization of 60 isolated wheat MYB genes and analysis of their expression during abiotic stress. *J. Exp. Bot.* 2012. **63**, N 1. P. 203–214. <https://doi.org/10.1093/jxb/err264>
 73. Rushton D.L., Tripathi P., Rabara R.C., Lin J., Ringler P., Boken A.K., Langum T.J., Smidt L., Boomsma D.D., Emme N.J., Chen X., Finer J.J., Shen Q.J. WRKY transcription factors: key components in abscisic acid signaling. *Plant Biotechnol. J.* 2012. **10**, N 1. P. 2–11. <https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2011.00634.x>
 74. Harris J.C., Sornaraj P., Taylor M., Bazanova N., Baumann U., Lovell B., Langridge P., Lopato S., Hrmova M. Molecular interactions of the γ -clade homeodomain-leucine zip-

- per class I transcription factors during the wheat response to water deficit. *Plant Mol. Biol.* 2016. **90**. P. 435–452. <https://doi.org/10.1007/s11103-015-0427-6>
75. Gao S.Q., Chen M., Xu Z.S., Zhao C.P., Li L., Xu H.J., Tang Y., Zhao X., Ma Y.Z. The soybean GmbZIP1 transcription factor enhances multiple abiotic stress tolerances in transgenic plants. *Plant Mol. Biol.* 2011. **75**, N 6. P. 537.
 76. Alvarez S., Roy Choudhury S., Pandey S. Comparative quantitative proteomics analysis of the ABA response of roots of drought-sensitive and drought-tolerant wheat varieties identifies proteomic signatures of drought adaptability. *J. Proteome Res.* 2014. **13**. P. 1688–1701. <https://doi.org/10.1021/pr401165b>
 77. Ding Y., Tao Y. and Zhu C. Emerging roles of microRNAs in the mediation of drought stress response in plants. *J. Exp. Bot.* 2013. **64**. P. 3077–3086. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert164>
 78. Gupta O.P., Meena N. L., Sharma I., Sharma P. Differential regulation of microRNAs in response to osmotic, salt and cold stresses in wheat. *Mol. Biol. Rep.* 2014. **41**. P. 4623–4629. <https://doi.org/10.1007/s11033-014-3333-0>
 79. Ma X., Xin Z., Wang Z., Yang Q., Guo S., Guo X. Identification and comparative analysis of differentially expressed miRNAs in leaves of two wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes during dehydration stress. *BMC Plant Biol.* 2015. **15**. P. 21. <https://doi.org/10.1186/s12870-015-0413-9>
 80. Proels R.K., Huckelhoven R. Cell-wall invertases, key enzymes in the modulation of plant metabolism during defence responses. *Mol. Plant Pathol.* 2014. **15**. P. 858–864.
 81. Hu M.Y., Li H., Pang J.Z., Liu Q., Zhang Y.J., Sun L. J. Over expression of sucrose transporter (TaSUT1A) improves drought tolerance in transgenic wheat. *Sci. Agric. Sin.* 2015. **48**, N 8. P. 1473–1483. <https://doi.org/10.3864/j.issn.0578-1752.2015.08.02>
 82. Rong W., Qi L., Wang A.Y., Ye X.G., Du L., Liang H. X. The ERF transcription factor TaERF3 promotes tolerance to salt and drought stresses in wheat. *Plant Biotechnol. J.* 2014. **12**, N 4. P. 468–479.
 83. Kang G.Z., Ma H.Z., Liu G.Q., Han Q.X., Li C.W., Guo T.C. Silencing of TaBTF3 gene impairs tolerance to freezing and drought stresses in wheat. *Mol. Gen. Genomics.* 2013. **288**, N 11. P. 591–599.
 84. Takahashi F., Kuromori T., Sato H., Shinozaki K. Regulatory Gene Net works in Drought Stress Responses and Resistance in Plants. In *Survival Strategies in Extreme Cold and Desiccation*. Springer: Berlin/Heidelberg, 2018. P. 189–214.
 85. Park S.-Y., Fung P., Nishimura N., Jensen D.R., Fujii H., Zhao Y., Lumba S., Santiago J., Rodrigues A., Tsz-Fung F.C. Abscisic acid inhibits type 2C protein phosphatases via the PYR/PYL family of START proteins. *Science*. 2009. **324**. P. 1068–1071.
 86. Qin N., Xu W.G., Hu L., Li Y., Wang H.W., Qi X.L. Drought tolerance and proteomic studies of transgenic wheat containing the maize C phosphoenolpyruvatecarboxylase (PEPC) gene. *Protoplasma*. 2016. **253**, N 6. P. 1503–1512. <https://doi.org/10.1007/s00709-015-0906-2>
 87. Bahieldin A., Mahfouz H. T., Eissa H. F., Saleh O.M., Ramadan A.M., Ahmed I.A., Dyer W.E., El-Itriby H.A., Madkour M.A. Field evaluation of transgenic wheat plants stably expressing the HVA1 gene for drought tolerance. *Physiol. Plant.* 2005. **123**, N 4. P. 421–427.
 88. Колупаев Ю.Е., Вайнер А.А., Ястреб Т.О. Пролін: фізіологічні функції і регуляція вмісту в рослинах в стресових умовах. *Вісн. Харків. нац. аграр. ун-ту. Серія Біол.* 2014. Вип. 2. С. 6–22.
 89. Vendruscolo E., Schuster I., Pileggi M. Stress-induced synthesis of proline confers tolerance to water deficit in transgenic wheat. *Plant Physiol.* 2007. **164**, N 10. P. 1367–1376.
 90. Михальська С.І., Комісаренко А.Г., Курчій В.М. Гени метаболізму проліну в біотехнології підвищення осмотичності пшениці. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2021. **28**. С. 94–99. <https://doi.org/10.7124/FEEO.v28.1382>
 91. Dubrovna O.V., Stasik O.O., Priadkina G.O., Zborivska O.V., Sokolovska-Sergiienko O.G. Resistance of genetically modified wheat plants, containing a double-stranded RNA suppressor of the proline dehydrogenase gene, to soil moisture deficiency. *Agricultural Science and Practice*. 2020. **7**, N 2. P. 24–34. <https://doi.org/10.15407/agrisp7.02.024>
 92. Сергеева Л.Є., Михальська С.І., Курчій В.М., Тищенко О.М. Вміст вільного проліну в проростках кукурудзи як показник швидких реакцій на дію летальних осмотичних стресів in vitro. *Фізіологія рослин і генетика*. 2015. **47**, № 6. С. 491–496.

93. Yan L., Loukoianov A., Blechl A. The wheat VRN2 gene is a flowering repressor down-regulated by vernalization. *Science*. 2004. **303**, N 5664. P. 1640—1644.
94. Bednarek J., Bowloughs A., Girousse C., Ravel C., Tassy C., Barret P., Bouzidi M., Mouzeyar S. Suppression of the TaGW2 gene by RNA interference leads to a decrease in grain size and weight in wheat. *J. Exp. Bot.* 2012. **63**, N 16. P. 5945—5955. <https://doi.org/10.1093/jxb/ers249>
95. Altenbach S.B., Tanaka C.K., Seabourn B.W. Silencing of omega-5 gliadins in transgenic wheat eliminates a major source of environmental variability and improves dough mixing properties of flour. *BMC Plant Biol.* 2014. **14**, N 393. P. 580. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00580>
96. Barro F., Iehisa J.C., Gimenez M.J. Targeting of prolamins by RNAi in bread wheat: effectiveness of seven silencing-fragment combinations for obtaining lines devoid of coeliac disease epitopes from highly immunogenic gliadins. *Plant Biotechnol. J.* 2016. **14**, N 3. P. 986—996. <https://doi.org/10.1111/pbi.12455>
97. Song X., Gu K., Duan X. A myosin5 dsRNA that reduces the fungicide resistance and pathogenicity of fusarium asiaticum. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 2018. **150**. P. 1—9. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2018.07.004>
98. Koepfel I., Hertig C., Hoffie R., Kumlehn J. Cas Endonuclease Technology — A Quantum Leap in the Advancement of Barley and Wheat Genetic Engineering. *Int. J. Mol. Sci.* 2019. **20**, N 11. P. 26—47. <https://doi.org/10.3390/ijms20112647>
99. Upadhyay S.K., Kumar J., Alok A., Tuli R. RNA-Guided genome editing for target gene mutations in wheat. *G3: Genes, Genomes, Genetics, Genet.* 2013. **3**, N 12. P. 2233—2238. <https://doi.org/10.1534/g3.113.008847>
100. Wang Y., Cheng X., Shan Q., Zhang Yi, Liu J., Gao C., Qiu J. Simultaneous editing of three homoeologues in hexaploid bread wheat confers heritable resistance to powdery mildew. *Nature Biotechnology*. 2014. **32**, N 9. P. 947—951. <https://doi.org/10.1038/nbt.2969>
101. Zhang Y., Bai Y., Wu G., Zou S., Chen Y., Gao C., Tang D. Simultaneous modification of three homoeologues of TaEDR1 by genome editing enhances powdery mildew resistance in wheat. *Plant Journal*. 2017. **91**, N 4. P. 714—724. <https://doi.org/10.1111/tbj.13599>
102. Nalam V.J., Alam S., Keereetawee J., Venables B., Burdan D., Lee H., Trick H., Sarowar S., Makandar R., Shah J. Facilitation of fusarium graminearum infection by 9-Lipoxygenases in arabidopsis and wheat. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 2015. **28**, N 10. P. 1142—1152. <https://doi.org/10.1094/mpmi-04-15-0096-r>
103. Sanchez-Leon S., Gil-Humanes J., Ozuna C.V., Gimenez M.J., Sousa C., Voytas D.F., Barro F. Low-gluten, non transgenic wheat engineered with CRISPR/Cas9. *Plant Biotechnol. J.* 2018. **16**, N 4. P. 902—910. <https://doi.org/10.1111/pbi.12837>
104. Jouanin A., Schaart J.G., Boyd L.A., Cockram J., Leigh F.J., Bates R., Wallington E.J., Visser R.G.F., Smulders M.J.M. Outlook for coeliac disease patients: towards bread wheat with hypoimmunogenic gluten by gene editing of α - and γ -gliadin gene families. *BMC Plant Biology*. 2019. **19**, N 1. P. 333. <https://doi.org/10.1186/s12870-019-1889-5>
105. Borisjuk N., Kishchenko O., Eliby S., Schramm C., Anderson P., Jatayev S., Kurishbayev A., Shavrukov Yu. Genetic modification for wheat improvement: from transgenesis to genome editing. *Biomed. Res. Int.* 2019. 6216304. 18 p. Published online 2019 Mar 10. <https://doi.org/10.1155/2019/6216304>
106. Abe F., Haque E., Hisano H., Tanaka T., Kamiya Y., Mikami M., Kawaura K., Endo M., Onishi K., Hayashi T., Sato K. Genome-edited triple-recessive mutation alters seed dormancy in wheat. *Cell Rep.* 2019. **28**, N 5. P. 1362—1369. e4. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.06.090>
107. Wang W., Simmonds J., Pan Q., Davidson D., He F., Battal A., Akhunova A., Trick H.N., Uauy C., Akhunov E. Gene editing and mutagenesis reveal inter-cultivar differences and additivity in the contribution of TaGW2 homoeologues to grain size and weight in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*. 2018. **131**, N 11. P. 2463—2475. <https://doi.org/10.1007/s00122-018-3166-7>
108. Liang Z., Chen K., Yan Y., Zhang Y., Gao C. Genotyping genome-edited mutations in plants using CRISPR ribonucleo protein complexes. *Plant Biotechnol. J.* 2018. **16**, N 12. P. 2053—2062. <https://doi.org/10.1111/pbi.12938>

Отримано 10.05.2022

REFERENCES

1. Shewry, P.R. (2009). *Wheat*. J. Exp. Bot., 60, pp. 1537-1553.
2. Morgun, V.V., Dubrovna, O.V. & Morgun, B.V. (2016). Modern biotechnologies for stress-resistant wheat plants. *Fiziologiya rasteniy i genetika*, 48, No. 3, pp. 196-213 [in Ukrainian].
3. http://www.ukrstat.gov.ua/operativ/operativ2019/sg/ovuzpsg/Arh_ovuzpsg2019_u.html
4. Aggarwal, P.K. (2008). Global climate change and Indian agriculture: Impacts, adaptation and mitigation. *Indian. J. Agr. Sci.*, 78, pp. 911-919.
5. Rezaei, E.E., Siebert, S., Manderscheid, R., Muller, J., Mahrookashani, A., Ehrenpfordt, B., Haensch, J., Weigeld, H.-J. & Ewert, F. (2018). Quantifying the response of wheat yields to heat stress: The role of the experimental setup. *Field Crops Res.*, 217, pp. 93-103. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2017.12.015>
6. Balla, K., Karsai, I., Bynis, P., Kiss, T., Berki, Z., Horvath, B., Mayer, M., Bencze, S. & Veisz, O. (2019). Heat stress responses in a large set of winter wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.) depend on the timing and duration of stress. *PLoS One*, 14, p. e0222639.
7. Raza, A., Razzaq, A., Mehmood, S.S., Zou, X., Zhang, X., Lv, Y. & Xu, J. (2019). Impact of climate change on crops adaptation and strategies to tackle its outcome: A review. *Plants*, 8, p. 34. <https://doi.org/10.3390/plants8020034>
8. Soba, D., Ben Mariem, S., Fuertes-Mendizabal, T., Mendez-Espinoza, A.M., Gilard, F., Gonzalez-Murua, C., Irigoyen, J.J., Tcherkez, G. & Aranjuelo, I. (2019). Metabolic effects of elevated CO₂ on wheat grain development and composition. *J. Agric. Food. Chem.*, 67, pp. 8441-8451.
9. Brown, L. (2011). The great food crisis of 2011. *Foreign Policy*, 10, pp. 1-5. Available at: http://www.earthpolicy.org/plan_b_updates/2011/update90
10. Bowne, J.B., Erwin, T.A., Juttner, J., Schnurbusch, T., Langridge, P., Bacic, A. & Roessner, U. (2012). Drought responses of leaf tissues from wheat cultivars of differing drought tolerance at the metabolite level. *Mol. Plant*, 5, pp. 418-429. <https://doi.org/10.1093/mp/ssr114>
11. Sallam, A., Mourad, A.M.I., Hussain, W. & Baenziger, S.P. (2018). Genetic variation in drought tolerance at seedling stage and grain yield in low rainfall environments in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Euphytica*, 214, 169 p. <https://doi.org/10.1007/s10681-018-2245-9>
12. Ahmed, H.G.M.D., Li, M., Khan, S.H. & Kashif, M. (2019). Early selection of bread wheat genotypes using morphological and photosynthetic attributes conferring drought tolerance. *J. Integrat. Agric.*, 18, pp. 2483-2491.
13. Rybalka, O.I. (2011). *Wheat quality and its improvement*. Kyiv: Logos [in Ukrainian].
14. Sivolap, Yu.M. (2013). Molecular markers and selection. *Cytology and genetics*, 47, No. 3. pp. 71-80 [in Russian].
15. Khan, H. (2019). *Genetic improvement for end-use quality in wheat*. Springer Nature. Switzerland.
16. Miedaner, T. & Korzun, V. (2012). Marker-assisted selection for disease resistance in wheat and barley breeding. *Phytopathology*, 102, pp. 560-566.
17. Kozub, N.O., Sozinov, I.O., Karelov, A.V., Blum, Ya.B. & Sozinov, O.O. (2017). Variety of Ukrainian varieties of soft winter wheat by loci of reserve proteins and molecular markers of disease resistance genes. *Cytology and genetics*, 51, No. 2, pp. 59-73 [in Ukrainian].
18. Morgun, V.V. & Rybalka, O.I. (2017). Strategy for genetic improvement of cereals in order to ensure food security, therapeutic and preventive nutrition and the needs of the processing industry. *Bulletin of the NAS of Ukraine*, 128, No. 3, pp. 54-64 [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.15407/vsn2017.03.054>
19. Matthies, I.E., Malosetti, M. & Röder, M.S. (2014). Genome-wide association mapping for kernel and malting quality traits using historical european barley records. *PLoS One*, 9, No. 11, pp. 112-119. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0110046>
20. Khan, M.K., Pandey, A., Choudhary, S., Saumya, Choudhary, Hakki, E.E., Akkaya, M.S. & Thomas, G. (2014). From RFLP to DaRT: molecular tools for wheat (*Triticum* spp.) diversity analysis. *Genet. Resour. Crop. Evol.*, 61, pp. 1001-1032. <https://doi.org/10.1007/s10722-014-0114-5>

21. He, J., Zhao, X., Laroche, A. Lu, Z.-H., Liu, H. & Li, Z. (2014). Genotyping-by-sequencing (GBS), an ultimate marker-assisted selection (MAS) tool to accelerate plant breeding. *Front Plant Sci.*, 5, pp. 1-8. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00484>
22. Gulaeva, N.V., Chesnokov, Yu.V., Shevchenko, S.N., Zueva, A.A. & Menibaev, A.I. (2018). Practical application of molecular markers in wheat breeding. *Proceedings of the Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*, 20, No. 2 (4), pp. 726-731 [in Russian].
23. Morgun, B.V. & Tishchenko, E.N. (2014). Molecular biotechnology to improve the resistance of cultivated cereals to osmotic stress. Kyiv: Logos [in Russian].
24. Shrawat, A.K. & Armstrong, C.L. (2018). Development and application of genetic engineering for wheat improvement. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 37, No. 5, pp. 335-421.
25. Cheng, M., Fry, J.E., Pang, S., Zhou, H., Hironaka, C.M., Duncan, D.R., Conner, T.W. & Wan, Y. (1997). Genetic transformation of wheat mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. *Plant Physiol.*, 115, pp. 971-980.
26. Dubrovna, O.V. & Morgun, B.V. (2018). Modern *Agrobacterium*-mediated transformation of wheat. *Fiziologiya rasteniy i genetika*, 50, No. 3, pp. 187-217 [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.11144/javeriana.sc23-1.amto>
27. Sergeeva, L.E., Mykhalska, S.I. & Komisarenko, A.G. (2019). Modern biotechnologies for increasing plant resistance to osmotic stresses. Kyiv: Kondor [in Russian].
28. Wang, K., Riaz, B. & Ye, X. (2018). Wheat genome editing expedited by efficient transformation techniques: progress and perspectives. *The Crop Journal*, 6, No.1, pp. 22-31.
29. Hensel, G., Marthe, C. & Kumlehn, J. (2017). *Agrobacterium*-mediated transformation of wheat using immature embryos. In Bhalla, P. & Singh, M. (Eds.). *Wheat Biotechnology: Methods in Molecular Biology*, (pp. 129-139), 1679.
30. Supartana, P., Shimizu, T., Nogawa, M., Shioiri, H., Nakaqima, T., Haramoto, N., Nozue, M. & Koqima, M. (2006). Development of simple end efficient in *Planta* transformation method for wheat (*Triticum aestivum* L.) using *Agrobacterium tumefaciens*. *J. Bio. Bioeng.*, 102, No. 3, pp. 162-170.
31. Chumakov, M.I. & Moiseeva, E.M. (2012). Technology of *agrobacterial* transformation of plants in *planta*. *Biotechnology*, 1, pp. 8-20 [in Russian].
32. Mykhalska, S.I., Komisarenko, A.G., Kurchii, V.M. & Tishchenko, O.M. (2018). Genetic transformation in *planta* of winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *Fakty eksperyment. evolyutsiyi orhanizmiv*, 22, pp. 293-298 [in Ukrainian].
33. Curaba, J., Singh, M.B. & Bhalla, P.L. (2014). miRNAs in the crosstalk between phytohormone signalling pathways. *J. Exp. Bot.*, 65, pp. 1425-1438. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru002>
34. Budak, H., Khan, Z. & Kantar, M. (2015). History and current status of wheat miRNAs using next-generation sequencing and their roles in development and stress. *Brief. Funct. Genomics*, 14, pp. 189-198. <https://doi.org/10.1093/bfpg/elu021>
35. Zhao, X.Y., Hong, P., Wu, J.Y. Chen, X.B., Ye, X.G., Pan, Y.Y., Wang, J. & Zhang, X.S. (2016). The *tae-miR408*-mediated control of *TaTOC1* genes transcription is required for the regulation of heading time in wheat. *Plant Physiology*, 170, pp. 1578-1594.
36. Morgun, V.V., Dubrovna, O.V. & Morgun, B.V. (2017). Obtaining stress-resistant wheat plants by biotechnological methods. *Plant physiology: achievements and new directions of development*. Kyiv: Logos, pp. 393-412 [in Ukrainian].
37. Demirci, Y., Zhang, B. & Unver, T. (2018). CRISPR/Cas9: an RNA-guided highly precise synthetic tool for plant genome editing. *Journal of Cellular Physiology*, 233, No. 3, pp. 1844-1859.
38. Zhang, Z., Hua, L., Gupta, A., Tricoli, D., Edwards, K.J., Yang, B. & Li, W. (2019). Development of an *Agrobacterium*-delivered CRISPR/Cas9 system for wheat genome editing. *Plant Biotechnology Journal*, 17, No. 8, pp. 1623-1635. <https://doi.org/10.1111/pbi.13088>
39. Kim, D., Alptekin, B. & Budak, H. (2018). CRISPR/Cas9 genome editing in wheat. *Funct. Integr. Genomics*, 18, pp. 31-41. <https://doi.org/10.1007/s10142-017-0572-x>
40. Barlow, K.M., Christy, B.P., O'Leary, G.J., Riffkin, P.A. & Nuttall, J.G. (2015). Simulating the impact of extreme heat and frost events on wheat crop production: A review. *Field Crops Research*, 171, pp. 109-119.
41. Hussain, B. (2015). Modernization in plant breeding approaches for improving biotic stress resistance in crop plants. *Turk. J. Agric. For.*, 39, pp. 515-530. <https://doi.org/10.3906/tar-1406-176>

42. Ahmad, M., Zaffar, G., Razvi, S.M., Dar, Z.A., Mir, S.D., Bukhari, S.A. & Habib, M. (2014). Resilience of cereal crops to abiotic stress: a review. *African J. Biotechnology*, 13, No. 29, pp. 2908-2921. <https://doi.org/10.5897/AJBX2013.13532>
43. Ren, J., Chen, L., Sun, D., You, F. M., Wang, J., Peng, Y., Nevo, E., Beiles, A., Sun, D., Luo, M.C. & Pend, J. (2013). SNP-revealed genetic diversity in wild emmer wheat correlates with ecological factors. *BMC Evol. Biol.*, 13, p. 169. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-13-169>
44. Sukumaran, S., Reynolds, M.P. & Sansaloni, C. (2018). Genome-wide association genome-wide association analyses identify QTL hotspots for yield and component traits in durum wheat grown under yield potential, drought and heat stress environments. *Front. Plant Sci.*, 9, pp. 1-16. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00081>
45. Ayalew, H., Liu, H., Burner, A. Kobiliski, B., Liu, C. & Yan, G. (2018). Genome-wide association mapping of major root length QTLs under PEG induced water stress in wheat. *Front. Plant. Sci.*, 9, pp. 1-9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01759>
46. Liu, Y., Liu, Y., Zhang, Q. Xie C., Li, H., Xia, X., He, W. & Qin, Y. (2018). Genome wide association analysis of quantitative trait loci for salinity tolerance related morphological indices in bread wheat. *Euphytica*, 214, p. 176. <https://doi.org/10.1007/s10681-018-2265-5>
47. Garg, D., Sareen, S., Dalal, S. & Tiwari, R. (2012). Heat shock protein based SNP marker for terminal heat stress in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Aust. J. Crop. Sci.*, 6, No. 11, pp. 1516-1521.
48. Khokhlova, L.P. (2016). Expression of stress protein genes and identification of molecular markers of plant resistance to high temperatures and drought, 158, No. 2, pp. 225-238 [in Russian]. <https://doi.org/10.26907/2542-064X>
49. Kochevenko, A., Jiang, Y., Seiler, C., Surdonja, K., Kollers, S., Reif, J.C., Korzun, V. & Graner, A. (2018). Identification of QTL hot spots for malting quality in two elite breeding lines with distinct tolerance to abiotic stress. *BMC Plant Biol.*, 18, p. 106.
50. Tahmasebi, S., Heidari, B., Pakniyat, H. & McIntyre, C.L. (2016). Mapping QTLs associated with agronomic and physiological traits under terminal drought and heat stress conditions in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Genome*, 60.
51. Merchuk-Ovnat, L., Barak, V., Fahima, T., Ordon, F., Lidzbarsky, G.A., Krugman, T. & Saranga, Y. (2016). Ancestral QTL alleles from wild emmer wheat improve drought resistance and productivity in modern wheat cultivars. *Front. Plant Sci.* <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00452>
52. Liu, J., Xu, Z., Fan, X., Zhou, Q., Cao, J., Wang, F., Ji, G., Yang, Li, Feng, Bo. & Wang, Tao. (2018). A genome wide association study of wheat spike related traits in China. *Front. Plant Sci.*, 9, pp. 1-14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01584>
53. Wang, S., Zhu, Y., Zhang, D. Shao. H., Liu, P., Hu, J.B., Zhang, H., Zhang, H.P., Chang, C., Lu, J., Xia, X.-C., Sun, G.L. & Ma, C.X. (2017). Genome-wide association study for grain yield and related traits in elite wheat varieties and advanced lines using SNP markers. *PLoS One*, 12, pp. 1-14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0188662>
54. Garcia, M., Eckermann, P., Haeefe, S. & Satija, S. (2019). Genome-wide association mapping of grain yield in a diverse collection of spring wheat (*Triticum aestivum* L.) evaluated in southern Australia. *PLoS One*, 14, pp. 1-19. <https://doi.org/10.25909/5becfa45c176f>
55. Daba, S.D., Tyagi, P., Brown-Guedira, G. & Mohammadi, M. (2018). Genome-wide association studies to identify loci and candidate genes controlling kernel weight and length in a historical United States wheat population. *Front. Plant Sci.*, 9, pp. 1-14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01045>
56. Mourad, A.M.I., Sallam, A., Belamkar, V., Wegulo, S., Bowden, R., Jin, Y., Mandy, E., Bakheit, B., El-Wafaa, A., Poland, J. & Baenziger, P. (2018). Genome-wide association study for identification and validation of novel SNP markers for Sr6 stem rust resistance gene in bread wheat. *Front. Plant Sci.*, 9, pp. 1-12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00380>
57. Eltaher, S., Sallam, A., Belamkar, V., Emar, H., Nower, A., Salem, K., Poland, J. & Baenziger, P. (2018). Genetic diversity and population structure of F3:6 Nebraska winter wheat genotypes using genotyping-by-sequencing. *Front. Genet.*, 9, p. 76. <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00076>

58. Ando, K., Rynearson, S., Muleta, K.T., Gedamu, J., Girma B., Bosque-Perez, N.A., Chen, M.S. & Mike, O. (2018). Genome-wide associations for multiple pest resistances in a Northwestern United States elite spring wheat panel. *PLoS One*, 13, No. 2: e0191305. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0191305>
59. Wang, X.T., Zeng, J., Li Y., Rong, X.L., Sun, J.T. & Sun, T. (2015). Expression of TaWRKY44, a wheat WRKY gene, in transgenic tobacco confers multiple abiotic stress tolerances. *Front. Plant Sci.*, 6, p. 61. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00615>
60. Tishchenko, O.M. & Mykhalska, S.I. (2017). Transcription factors NAC-subfamily in improving crop resistance to osmotic stresses. *Plant Physiology and Genetics*, 3, pp. 211-217 [in Ukrainian].
61. Niu, C.F., We, W., Zhou, Q.Y., Tian, A.G., Hao, Y.J. & Zhang, W. (2012). Wheat WRKY genes TaWRKY2 and TaWRKY19 regulate abiotic stress tolerance in transgenic Arabidopsis plants. *Plant Cell Environ.*, 35, No. 6, pp. 1156-1170. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2012.02480.x>
62. Qin, Y.X., Wang, M.C., Tian, Y.C., He, W.X., Han, L. & Xia, G.M. (2012). Overexpression of TaMYB33 encoding a novel wheat MYB transcription factor increases salt and drought tolerance in Arabidopsis. *Mol. Biol. Rep.*, 39, No. 6, pp. 7183-7192. <https://doi.org/10.1007/s11033-012-1550-y>
63. Deng, X.M., Zhou, S.Y., Hu, W., Feng, J.L., Zhang, F., Chen, L.H., Huang, C., Luo, Q., He, Y., Yang, G. & He, G. (2013). Ectopic expression of wheat TaCIPK14, encoding a calcineurin B-like protein-interacting protein kinase, confers salinity and cold tolerance in tobacco. *Physiol. Plant*, 149, No. 3, pp. 367-377. <https://doi.org/10.1111/ppl.12046>
64. Hu, W., Huang, C., Deng, X.M., Zhou, S.Y., Chen, L.H. & Li, Y. (2013). TaASR1, a transcription factor gene in wheat, confers drought stress tolerance in transgenic tobacco. *Plant Cell Environ.*, 36, No. 8, pp. 1449-1464. <https://doi.org/10.1111/pce.12074>
65. Licausi, F., Giorgi, F.M., Zenoni, S., Osti, F., Pezzotti, M. & Perata, P. (2010). Genomic and transcriptomic analysis of the AP2/ERF superfamily in *Vitis vinifera*. *BMC Genom.*, 11, p. 719.
66. Sharoni, A.M., Nuruzzaman, M., Satoh, K., Shimizu, T., Kondoh, H., Sasaya, T., Choi, I.-R., Omura, T. & Kikuchi, S. (2010). Gene structures, classification and expression models of the AP2/EREBP transcription factor family in rice. *Plant Cell Physiol.*, 52, pp. 344-360.
67. Rong, W., Qi L., Wang, A.Y., Ye, X.G., Du, L., Liang, H.X. & Zhang, Z. (2014). The ERF transcription factor TaERF3 promotes tolerance to salt and drought stresses in wheat. *Plant Biotechnol J.*, 12, No. 4, pp. 468-479. <https://doi.org/10.1111/pbi.12153>
68. Jun-Wei, W., Feng-Ping, Y., Xu-Qing, C., Liang, R.Q., Zhang, L.Q., Geng, D.M., Zhang, X.D., Song, Y.Z. & Zhang, G.S. (2006). Induced expression of DREB transcriptional factor and study on its physiological effects of drought tolerance in transgenic wheat. *Acta Genetica Sinica*, 33, No. 5, pp. 468-476. [https://doi.org/10.1016/S0379-4172\(06\)60074-7](https://doi.org/10.1016/S0379-4172(06)60074-7)
69. Morran, S., Eini, O., Pyvovarenko, T., Parent, B., Singh R., Ismagul, A, Eliby, S., Shirley, N., Langridge, P. & Lopato, S. (2011). Improvement of stress tolerance of wheat and barley by modulation of expression of DREB/CBF factors. *Plant Biotechnol. J.*, 9, No. 2, pp. 230-249.
70. Pellegrineschi, A., Reynolds, M., Pacheco, M., Brito R.M., Almeraya, R., Yamaguchi-Shinozaki, K. & Hoisington, D. (2004). Stress-induced expression in wheat of the Arabidopsis thaliana DREB1A gene delays water stress symptoms under greenhouse conditions. *Genome*, 47, pp. 493-500.
71. Xu, G.-P., Waya, H.M., Richardson, T., Drenth, J., Joyce, P.A. & McIntyre, C.L. (2011). Overexpression of TaNAC69 Leads to Enhanced Transcript Levels of Stress Up-Regulated Genes and Dehydration Tolerance in Bread Wheat. *Molecular. Plant*, pp. 1-16. <https://doi.org/10.1093/mp/ssp013>
72. Zhang, L., Zhao, G., Jia, J., Liu, Xu & Kong, X. (2012). Molecular characterization of 60 isolated wheat MYB genes and analysis of their expression during abiotic stress. *Journal of Experimental Botany*, 63, No. 1, pp. 203-214. <https://doi.org/10.1093/jxb/err264>
73. Rushton, D.L., Tripathi, P., Rabara, R.C., Lin, J., Ringler, P., Boken, A.K., Langum, T.J., Smidt, L., Boomsma, D.D., Emme, N.J., Chen, X., Finer, J.J. & Shen, Q.J.

- (2012). WRKY transcription factors: key components in abscisic acid signaling. *Plant Biotechnol. J.*, 10, No. 1, pp. 2-11. <https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2011.00634.x>
74. Harris, J.C., Sornaraj, P., Taylor, M., Bazanova, N., Baumann, U., Lovell, B., Langridge, P., Lopato, S. & Hrmova, M. (2016). Molecular interactions of the γ -clade homeodomain-leucine zipper class I transcription factors during the wheat response to water deficit. *Plant Mol. Biol.*, 90, pp. 435-452. <https://doi.org/10.1007/s11103-015-0427-6>.
 75. Gao, S.Q., Chen, M., Xu, Z.S., Zhao, C.P., Li, L., Xu, H.J., Tang, Y., Zhao, X. & Ma, Y.Z. (2011). The soybean GmbZIP1 transcription factor enhances multiple abiotic stress tolerances in transgenic plants. *Plant Mol. Biol.*, 75, No. 6, p. 537.
 76. Alvarez, S., Roy Choudhury, S. & Pandey, S. (2014). Comparative quantitative proteomics analysis of the ABA response of roots of drought-sensitive and drought-tolerant wheat varieties identifies proteomic signatures of drought adaptability. *J. Proteome Res.*, 13, pp. 1688-1701. <https://doi.org/10.1021/pr401165b>
 77. Ding, Y., Tao, Y. & Zhu, C. (2013). Emerging roles of microRNAs in the mediation of drought stress response in plants. *J. Exp. Bot.*, 64, pp. 3077-3086. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert164>
 78. Gupta, O.P., Meena, N. L., Sharma, I. & Sharma, P. (2014). Differential regulation of microRNAs in response to osmotic, salt and cold stresses in wheat. *Mol. Biol. Rep.*, 41, pp. 4623-4629. <https://doi.org/10.1007/s11033-014-3333-0>
 79. Ma, X., Xin, Z., Wang, Z., Yang, Q., Guo, S. & Guo, X. (2015). Identification and comparative analysis of differentially expressed miRNAs in leaves of two wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes during dehydration stress. *BMC Plant Biol.*, 15, p. 21. <https://doi.org/10.1186/s12870-015-0413-9>
 80. Proels, R.K. & Huckelhoven, R. (2014). Cell-wall invertases, key enzymes in the modulation of plant metabolism during defence responses. *Mol. Plant Pathol.*, 15, pp. 858-864.
 81. Hu, M.Y., Li, H., Pang, J.Z., Liu, Q., Zhang, Y.J. & Sun, L.J. (2015). Over expression of sucrose transporter (TaSUT1A) improves drought tolerance in transgenic wheat. *Sci. Agric. Sin.*, 48, No. 8, pp. 1473-1483. <https://doi.org/10.3864/j.issn.0578-1752.2015.08.02>
 82. Rong, W., Qi, L., Wang, A.Y., Ye, X.G., Du, L. & Liang, H. X. (2014). The ERF transcription factor TaERF3 promotes tolerance to salt and drought stresses in wheat. *Plant Biotechnol. J.*, 12, No. 4, pp. 468-479.
 83. Kang, G.Z., Ma, H.Z., Liu, G.Q., Han, Q.X., Li, C.W. & Guo, T.C. (2013). Silencing of TaBTF3 gene impairs tolerance to freezing and drought stresses in wheat. *Mol. Gen. Genomics*, 288, No. 11, pp. 591-599.
 84. Takahashi, F., Kuromori, T., Sato, H. & Shinozaki, K. (2018). Regulatory Gene Networks in Drought Stress Responses and Resistance in Plants. In *Survival Strategies in Extreme Cold and Desiccation*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, pp. 189-214.
 85. Park, S.-Y., Fung, P., Nishimura, N., Jensen, D.R., Fujii, H., Zhao, Y., Lumba, S., Santiago, J., Rodrigues, A. & Tsz-Fung, F.C. (2009). Abscisic acid inhibits type 2C protein phosphatases via the PYR/PYL family of START proteins. *Science*, 324, pp. 1068-1071.
 86. Qin, N., Xu, W.G., Hu, L., Li, Y., Wang, H.W. & Qi, X.L. (2016). Drought tolerance and proteomic studies of transgenic wheat containing the maize C phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPC) gene. *Protoplasma*, 253, No. 6, pp. 1503-1512. <https://doi.org/10.1007/s00709-015-0906-2>
 87. Bahieldin, A., Mahfouz, H. T., Eissa, H. F., Saleh, O.M., Ramadan, A.M., Ahmed, I.A., Dyer, W.E., El-Itriby, H.A. & Madkour, M.A. (2005). Field evaluation of transgenic wheat plants stably expressing the HVA1 gene for drought tolerance. *Physiol. Plant.*, 123, No. 4, pp. 421-427.
 88. Kolupaev, Yu. E., Vainer, A.A. & Yastreb, T.O. (2014). Proline: physiological functions and regulation of the content in plants under stress conditions Newsletter. Kharkiv. nat. agrarian. un-tu. Ser. Biol., No. 2, pp. 6-22 [in Russian].
 89. Vendruscolo, E., Schuster, I. & Pileggi, M. (2007). Stress-induced synthesis of proline confers tolerance to water deficit in transgenic wheat. *Plant Physiol.*, 164, No. 10, pp. 1367-1376.
 90. Mykhalska, S.I., Komisarenko, A.G. & Kurchii, V.M. (2021). Genes of proline metabolism in biotechnology of increasing wheat osmotic stability. Factors of experimental evolution of organisms, 28, pp. 94-99 [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.7124/FEEO.v22.964>

91. Dubrovna, O.V., Stasik, O.O., Priadkina, G.O., Zborivska, O.V. & Sokolovska-Sergiienko, O.G. (2020). Resistance of genetically modified wheat plants, containing a double-stranded RNA suppressor of the proline dehydrogenase gene, to soil moisture deficiency. *Agricultural Science and Practice*, 7, No. 2, pp. 24-34. <https://doi.org/10.15407/agrisp7.02.024>
92. Sergeeva, L.E., Mykhalska, S.І., Kurchiy, V.M. & Tishchenko, E.N. (2015). Free proline content in maize seedlings as an indicator of rapid responses to lethal osmotic stress in vitro. *Fiziologiya rasteniy i genetika*, 47, No. 6, pp. 491-496 [in Ukrainian].
93. Yan, L., Loukoianov, A. & Blechl, A. (2004). The wheat VRN2 gene is a flowering repressor down-regulated by vernalization. *Science*, 303, No. 5664, pp. 1640-1644.
94. Bednarek, J., Bowloughs, A., Girousse, C., Ravel, C., Tassy, C., Barret, P., Bouzidi, M. & Mouzeyar, S. (2012). Suppression of the TaGW2 gene by RNA interference leads to a decrease in grain size and weight in wheat. *J. Exp. Bot.*, 63, No. 16, pp. 5945-5955. <https://doi.org/10.1093/jxb/ers249>
95. Altenbach, S.B., Tanaka, C.K. & Seabourn, B.W. (2014). Silencing of omega-5 gliadins in transgenic wheat eliminates a major source of environmental variability and improves dough mixing properties of flour. *BMC Plant Biology*, 14, No. 393, p. 580. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00580>
96. Barro, F., Iehisa, J.C. & Gimenez, M.J. (2016). Targeting of prolamins by RNAi in bread wheat: effectiveness of seven silencing-fragment combinations for obtaining lines devoid of coeliac disease epitopes from highly immunogenic gliadins. *Plant Biotechnol. J.*, 14, No. 3, pp. 986-996. <https://doi.org/10.1111/pbi.12455>
97. Song, X., Gu, K. & Duan, X. (2018). A myosin5 dsRNA that reduces the fungicide resistance and pathogenicity of fusarium asiaticum. *Pesticide Biochem. Physiol.*, 150, pp. 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2018.07.004>
98. Koepfel, I., Hertig, C., Hoffie, R. & Kumlehn, J. (2019). Cas endonuclease technology — a quantum leap in the advancement of barley and wheat genetic engineering. *Int. J. Mol. Sci.*, 20, No. 11, pp. 26-47. <https://doi.org/10.3390/ijms20112647>
99. Upadhyay, S.K., Kumar, J., Alok, A. & Tuli, R. (2013). RNA-guided genome editing for target gene mutations in wheat. *G3: Genes, Genomes, Genetics, Genet.*, 3, No. 12, pp. 2233-2238. <https://doi.org/10.1534/g3.113.008847>
100. Wang, Y., Cheng, X., Shan, Q., Zhang, Yi., Liu, J., Gao, C. & Qiu, J. (2014). Simultaneous editing of three homoeoalleles in hexaploid bread wheat confers heritable resistance to powdery mildew. *Nature Biotechnol.*, 32, No. 9, pp. 947-951. <https://doi.org/10.1038/nbt.2969>
101. Zhang, Y., Bai, Y., Wu, G., Zou, S., Chen, Y., Gao, C. & Tang, D. (2017). Simultaneous modification of three homoeologs of TaEDR1 by genome editing enhances powdery mildew resistance in wheat. *Plant J.*, 91, No. 4, pp. 714-724. <https://doi.org/10.1111/tpj.13599>
102. Nalam, V.J., Alam, S., Keereetaweep, J., Venables, B., Burdan, D., Lee, H., Trick, H., Sarowar, S., Makandar, R. & Shah, J. (2015). Facilitation of fusarium graminearum infection by 9-Lipoxygenases in Arabidopsis and wheat. *Molecular Plant-Microbe Int.*, 28, No. 10, pp. 1142-1152. <https://doi.org/10.1094/mpmi-04-15-0096-r>
103. Sanchez-Leon, S., Gil-Humanes, J., Ozuna, C.V., Gimenez, M.J., Sousa, C., Voytas, D.F. & Barro, F. (2018). Low-gluten, non transgenic wheat engineered with CRISPR/Cas9. *Plant Biotechnol. J.*, 16, No. 4, pp. 902-910. <https://doi.org/10.1111/pbi.12837>
104. Jouanin, A., Schaart, J.G., Boyd, L.A., Cockram, J., Leigh, F.J., Bates, R., Wallington, E.J., Visser, R.G.F. & Smulders, M.J.M. (2019). Outlook for coeliac disease patients: towards bread wheat with hypoimmunogenic gluten by gene editing of α - and γ -gliadin gene families. *BMC plant biology*, 19, No. 1, p. 333. <https://doi.org/10.1186/s12870-019-1889-5>
105. Borisjuk, N., Kishchenko, O., Eliby, S., Schramm, C., Anderson, P., Jatayev, S., Kurishbayev, A. & Shavrukov, Yu. (2019). Genetic modification for wheat improvement: from transgenesis to genome editing. *Biomed Res. Int.*, 6216304, 18 p. <https://doi.org/10.1155/2019/6216304>
106. Abe, F., Haque, E., Hisano, H., Tanaka, T., Kamiya, Y., Mikami, M., Kawaura, K., Endo, M., Onishi, K., Hayashi, T. & Sato, K. (2019). Genome-edited triple-recessive

- mutation alters seed dormancy in wheat. *Cell Reports*, 28, No. 5, pp. 1362-1369. e4. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.06.090>
107. Wang, W., Simmonds, J., Pan, Q., Davidson, D., He, F., Battal, A., Akhunova, A., Trick, H.N., Uauy, C. & Akhunov, E. (2018). Gene editing and mutagenesis reveal inter-cultivar differences and additivity in the contribution of TaGW2 homoeologues to grain size and weight in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 131, No. 11, pp. 2463-2475. <https://doi.org/10.1007/s00122-018-3166-7>
108. Liang, Z., Chen, K., Yan, Y., Zhang, Y. & Gao, C. (2018). Genotyping genome-edited mutations in plants using CRISPR ribonucleo protein complexes. *Plant Biotechnol. J.*, 16, No. 12, pp. 2053-2062. <https://doi.org/10.1111/pbi.12938>

Received 10.05.2022

ACTUAL DIRECTIONS OF MODERN BIOTECHNOLOGIES OF WHEAT

S.I. Mykhalska, A.G. Komisarenko

Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine
31/17 Vasylkivska St., Kyiv, 03022, Ukraine
e-mail: mykhalskasvitlana@gmail.com

Wheat (*Triticum aestivum* L.) is one of the most important cereals, which is a key component of the human diet, the main component of animal feed and seeds for industrial purposes. Due to the growing population in the world, there is an urgent need to enhance the production potential and yield of wheat. In addition, climate change requires increasing the adaptive potential of plants to stressful weather conditions. Therefore, improving wheat in terms of biotic and abiotic resistance to stress, quality and yield characteristics are the main tasks of breeders and geneticists. To overcome the negative impact of biotic and abiotic factors that can lead to a significant reduction in the yield of this crop, we can use genetic engineering technologies and select genotypes with economically important traits, based on the study of genetic polymorphism. The review considers modern biotechnological approaches to improve the economic and valuable characteristics of wheat. Promising genetic engineering technologies to increase the productivity and adaptability of wheat to abiotic stresses are described. Possibilities of marker-associated selection in the process of creating wheat varieties with unique combinations of genes that provide adaptation to growing conditions and the necessary level of development of useful technological traits are highlighted. Examples of creating new forms of wheat with increased resistance to stressors through genetic modification are given. The article focuses on modern technologies of targeted genome editing using the CRISPR/Cas9 system, and obtaining modified wheat plants without the production of transgenic proteins using regulatory mechanisms of gene expression by RNA interference.

Key words: *Triticum aestivum* L., stress resistance, productivity, genetic engineering technologies, marker-associated selection, genetic modification, RNA interference.