

- Biodiversity and Ecosystem in the River. Water. 2022; 14(9):1402.
3. Vallero A.D. Environmental Biotechnology: A Biosystems Approach. 1st edition. Burlington, Mass, USA: Elsevier Academic Press; 2010.

УДК: 579.254.2:633.11

ТОЛЕРАНТНІСТЬ ГЕНЕТИЧНО МОДИФІКОВАНИХ РОСЛИН ПШЕНИЦІ З ГЕТЕРОЛОГІЧНИМ ГЕНОМ ОРНІТИН-Δ-АМІНОТРАНСФЕРАЗИ ДО ВОДНОГО ДЕФІЦИТУ

**Дубровна О. В., Прядкіна Г. О., Михальська С. І.,
Комісаренко А. Г.**

Інститут фізіології рослин і генетики НАН України, м. Київ
E-mail: allakomisarenko2017@gmail.com

Рослини озимої пшениці (*Triticum aestivum* L.) в сучасних умовах часто потерпають від водного дефіциту, тому створення посухостійких сортів даної культури є актуальною задачею сьогодення. Одним з перспективних напрямів отримання таких рослин є застосування методів генетичної інженерії. Для цього розробляють молекулярні біотехнології, спрямовані на отримання стійких генотипів шляхом інтеграції в геном культурних рослин рекомбінантних молекул ДНК, здатних на генетичному рівні контролювати процеси адаптації/стійкості [3]. Відомо, що у відповідь на стрес змінюється рівень експресії генів, які контролюють метаболізм різних амінокислот. Найчастіше досліджують гени, що контролюють синтез та катаболізм проліну, оскільки додатковий вміст цієї амінокислоти підвищує загальну стійкість рослин до абіотичних стресів [2]. До їх числа відноситься ген орнітин-δ-амінотрансферази (*oat*), який кодує фермент (ОАТ, ЕС 2.6.1.13), що каталізує перенесення дельта-аміногрупи орнітина на альфа-кетоглутарат з утворенням пірролін-5-карбоксилату (П5К) та глутамату. Ця реакція є частиною системи взаємоперетворень таких амінокислот, як аргінін, орнітин, глутамат і пролін [1].

Метою роботи була оцінка посухостійкості трансгенних

Екологічна біотехнологія та біотехнологія в рослинництві і тваринництві

рослин озимої пшениці, які несуть гетерологічний ген *oat* люцерни, на основі аналізу фізіолого-біохімічних характеристик та господарських показників. Матеріалом для досліджень слугували генотипи озимої пшениці УК106/19 і УК 171/19h та отримані на їх основі методом *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації *in planta* трансгенні лінії насінневого покоління Т₃. Генетичну трансформацію проводили з використанням штаму AGL0, що містить бінарну векторну конструкцію pBi-OAT з цільовим геном орнітин- δ -амінотрансферази *Medicago truncatula* [4]. Вихідні та трансгенні генотипи вирощували у вегетаційних посудинах за умов нормального поливу – 70% від повної вологості (ПВ), та за умов посухи: у фазу виходу в трубку вологість ґрунту зменшували до 30% ПВ і підтримували її на цьому рівні протягом 7 діб. Вміст вільного L-проліну визначали за методикою Чинарда [5]. Активність ОАТ оцінювали як кількість ферменту, що каталізує перетворення 1 мкмоль субстрату/хв (1U) в перерахунку на 1мг білка [5]. Вміст хлорофілів *a* та *b* та загальних каротиноїдів визначали методом екстракції пігментів диметилсульфоксидом [2]. Показники структури врожаю визначали у фазу повної стиглості зерна у трьохкратній повторності [4].

Оцінка активності ферменту ОАТ показала, що у рослин вихідних генотипів за нормальних умов вирощування і за тижневої посухи вона була меншою (відповідно $0,33 \pm 0,04$ та $0,7 \pm 0,05$ нмоль П5К/хв.*мгр білка), ніж у трансгенних форм ($0,55 \pm 0,09$ та $0,96 \pm 0,07$ нмоль П5К/хв.*мгр білка, відповідно). Отже, встановлено, що активність ОАТ у трансгенних рослин за різних умов вологозабезпечення була у 1,4-1,7 рази вищою, що очевидно, обумовлено експресією чужорідного гена. Проте за вмістом вільного L-проліну суттєвої різниці між досліджуваними варіантами рослин не спостерігалось.

Оскільки вміст хлорофілу у листках вважають важливим індикатором реакції рослин на посуху було проаналізовано кількісні зміни та співвідношення фотосинтетичних пігментів у ліній Т₃ порівняно з вихідними генотипами, за стресових умов водного дефіциту. Встановлено, що вміст суми хлорофілів (*a+b*) у прапорцевих листках трансгенних ліній, в середньому, був на 9,5 % вищим, порівняно з вихідними рослинами, за вмістом

Екологічна біотехнологія та біотехнологія в рослинництві і тваринництві

каротиноїдів – вони істотно не відрізнялися. Співвідношення хлорофілів *a/b* у прапорцевих листках ліній Т₃ за дії посухи не суттєво відрізнялося від показників вихідних рослин, тоді як співвідношення вмісту каротиноїдів до хлорофілу у них було нижчим: відповідно 0,25 та 0,23. Отже, вищий вміст суми хлорофілів та менша величина співвідношення вмісту каротиноїдів до хлорофілу свідчать про кращу адаптацію пігментного апарату трансформантів до посушливих умов.

Встановлено, що введення в геном рослин пшениці генетичної конструкції, що підсилює експресію гена *oat*, стимулює ріст коренів в умовах норми/стресу. Так, довжина коренів у Т₃ рослин була більшою ніж у вихідних генотипів в середньому на 3,65 см у варіанті з достатнім вологозабезпеченням та на 4,4 см – за водного дефіциту. Маса коренів генетично змінених рослин вирощених в нормальних умовах була вищою, ніж у рослин вихідних генотипів. За дії посухи маса сухої речовини коренів у нетрансформованих рослин зменшувалась на 29 %, а в модифікованих – в середньому на 13 %. В той же час, біотехнологічні рослини в умовах достатнього вологозабезпечення за масою зерна та кількістю зерен з головного колосу істотно не відрізнялися від рослин вихідних генотипів. Проте, за стресового стану вони достовірно перевищували відповідні значення у нетрансгенних рослин. Більша врожайність рослин Т₃ пшениці була наслідком збільшення кількості продуктивних стебел – в середньому 2,9, проти 2,2 – у вихідних генотипів.

Таким чином, порівняльний аналіз фізіолого-біохімічних характеристик та господарських показників трансгенних рослин м'якої пшениці, що містять гетерологічний ген *oat* люцерни, засвідчив їх підвищену толерантність до ґрунтової посухи порівняно з нетрансгенними генотипами. Більш висока зернова продуктивність генетично модифікованих рослин пшениці з додатковою копією гена орнітин- δ -амінотрансферази в умовах недостатнього забезпечення водою обумовлена краще розвинутою кореневою системою та більшою кількістю продуктивних стебел, ніж у рослин вихідних генотипів.

Список літератури

1. Anwar A., She M., Wang K., Riaz B., Ye X. Biological roles

- of ornithine aminotransferase (OAT) in plant stress tolerance: present progress and future perspectives. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018. Vol. 19. P. 3681. <https://doi.org/10.3390/ijms19113681>
2. Dubrovna O.V., Stasik O.O., Priadkina G.O., Zborivska O.V., Sokolovska-Sergienko 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. Vol. 7, No 2. P. 24–34. <https://doi.org/10.15407/agrisp7.02.024>
 3. Hiei Y., Ishida Y., Komari T. Progress of cereal transformation technology mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. *Frontiers in Plant Science*. 2014. Vol. 5. P. 628. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00628>
 4. Комісаренко А. Г., Михальська С. І., Курчій В. М. Продуктивність рослин пшениці озимої з додатковою копією гена орнітинамінотрансферази за умов водного дефіциту. Фактори експериментальної еволюції організмів. 2019. Т. 25. С. 247–252. <https://doi.org/10.7124/FEEO.v25.1171>
 5. Михальська С.І., Комісаренко А.Г., Курчій В.М. Гени метаболізму проліну в біотехнології підвищення осмостійкості пшениці. Фактори експериментальної еволюції організмів. 2021. Т. 28. С. 94–99. <https://doi.org/10.7124/FEEO.v28.1382>

УДК 574.64

ОЦІНКА ПОТЕНЦІЙНОЇ ДІЇ ГІДРОЛІЗАТУ ДРІЖДЖІВ НА БІОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ *CAPSICUM ANNUUM L.*

Качура В. Ю., Нестерова Н. Г.

Національний університет біоресурсів і природокористування
України

E-mail: viktoriyakachura2@gmail.com

Основоположною стратегією розвитку сільсько-господарського сектору України та світу є поліпшення якості та