

УДК 577.21:57.085.1:577.233.3:633

СУЧАСНІ БІОТЕХНОЛОГІЇ ОТРИМАННЯ СТІЙКИХ ДО СТРЕСІВ РОСЛИН ПШЕНИЦІ

В.В. МОРГУН¹, О.В. ДУБРОВНА¹, Б.В. МОРГУН^{1,2}

¹Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України
03022 Київ, вул. Васильківська, 31/17
e-mail: dubrovny@ukr.net

²Інститут клітинної біології та генетичної інженерії Національної академії наук України
03143 Київ, вул. Академіка Заболотного, 148

Проаналізовано сучасний стан розвитку клітинних і молекулярних біотехнологій рослин, зокрема пшениці. Висвітлено досягнення вітчизняних і зарубіжних учених у галузі клітинної селекції й генетичної інженерії з отримання стійких до біотичних та абіотичних стресових чинників довкілля рослин пшениці. Приділено увагу основним напрямам, методам добору й оцінювання, можливостям, перспективам і проблемам сучасних біотехнологічних досліджень цієї стратегічної для України сільськогосподарської культури.

Ключові слова: *Triticum* L., клітинна селекція, генетична інженерія, молекулярні маркери, біотичні й абіотичні стресори.

Згідно з прогнозами, населення земної кулі до 2050 р. зросте до 12 млрд осіб, тому виробництво продуктів харчування необхідно збільшити втричі. Проте можливості сільського господарства обмежуються виснаженням ресурсів, погіршенням доступності та якості прісної води. Більша частина прісної води знаходиться в замороженому стані, менш як 1 % загальної кількості води придатний для використання людиною, в тому числі на потреби сільського господарства. Виробництво продуктів харчування також лімітується зменшенням площі суходолу, який можна використовувати як сільськогосподарські угіддя. Так, якщо у 1977 р. на душу населення припадало 0,26 га орної землі, то до 2050 р. передбачається скорочення цієї площі до 0,15 га. Крім того, урожай культурних рослин залежить від впливу цілої низки біотичних та абіотичних стресових чинників довкілля. Зокрема, застосування агрохімікатів спричинює значне засолення орних земель і забруднення води.

Забезпечити зростання виробництва сільськогосподарської продукції за допомогою традиційних агротехнічних прийомів і виведення нових сортів шляхом класичної селекції стає дедалі складніше. На думку Нормана Борлауга, в XXI ст. в забезпеченні продуктами харчування населення Землі, що зростає швидкими темпами, вирішальна роль належатиме сучасним удосконаленим біотехнологічним методам, які включають клітинну й генетичну інженерію, тобто методологіям створення нових стійких форм і сортів важливих сільськогосподарських культур.

В останні роки біотехнологія стає одним із новітніх інструментів сільськогосподарських досліджень. У поєднанні з традиційною практи-

кою селекції рослин вона робить внесок у розвиток нових методів генетичних змін розвитку рослин та їх продуктивності. Біотехнологічні підходи мають потенціал, щоб доповнити традиційні методи селекції внаслідок скорочення часу, необхідного для виведення сортів із поліпшеними характеристиками.

Традиційна селекція використовує доместиковані (районовані) сорти сільськогосподарських культур і пов'язані з ними види як джерело генів для вдосконалення існуючих сортів, цей процес передбачає передачу набору генів від донора до реципієнта. На противагу йому, біотехнологічні підходи дають змогу передавати бажані гени з будь-якого організму і тим самим збільшувати доступний генофонд для поліпшення. Біотехнологія запропонувала можливе рішення, по-перше, за рахунок зниження витрат виробництва в результаті отримання рослин, стійких до різних абіотичних і біотичних стресорів, по-друге, за рахунок підвищення якості продукції (тобто підвищення якості кінцевого продукту, його поживної цінності, обробки або характеристики зберігання). Розвиток технологій *in vitro* доповнює традиційні методи селекції рослин у створенні генетичної мінливості, необхідної для отримання нових сортів із заданими ознаками.

Пшениця є другою за величиною врожаю сільськогосподарською культурою в світі, посівні площі якої займають більш як 200 млн га. Втім, у зв'язку зі зміною клімату та деякими несприятливими екологічними умовами спостерігається тенденція до зниження світового виробництва цієї культури (ФАО, 2015). Існує багато чинників, які не дають можливості повною мірою реалізувати детермінований спадковий потенціал сортів, серед яких чільне місце посідають біотичні й абіотичні стресори. Відомо, що до 50 % урожаю втрачається від дії таких екологічних чинників (абіотичних стресорів), як екстремальна температура, посуха, засолення, токсичні метали, гербіциди, ультрафіолетове опромінення та ін. Крім того, пшеницю уражують понад 100 хвороб, серед яких половину становлять грибні, понад третину — вірусні і по 10 % — бактеріальні та спричинені нематодами, що може призвести до втрати 10—30 % урожаю. У зв'язку з цим основні дослідження біотехнологів спрямовані на створення поліпшених і принципово нових генотипів із одиночною, груповою або комплексною стійкістю до біотичних чи абіотичних стресових чинників доквілля за збереження й підвищення їх продуктивності та якості [14].

На сьогодні одним із перспективних напрямів, які дають можливість підвищити ефективність створення нових форм пшениці, є використання методів клітинної селекції. При цьому селекцію *in vitro* проводять на ознаки, які можуть виявлятися на клітинному рівні, зокрема на збільшену експресію певних генів, що є головними перемикачами метаболічних шляхів, які забезпечують толерантність до стресових чинників. Виходячи з визначення адаптаційних властивостей рослин як генетично детермінованого процесу формування систем стійкості організму, що виявляється на різних структурних рівнях, його вдосконалення можливе в умовах *in vitro*.

Клітинна селекція є методом створення нових форм рослин шляхом виділення мутантних клітин і соматональних варіантів за селективних умов. Селекція *in vitro* є начебто розвитком мутаційної селекції, проте реалізується на рівні одиничних клітин із застосуванням техніки *in vitro*, що надає їй ширших можливостей. Технології клітинної селекції, що розробляються для основних сільськогосподарських куль-

тур, ґрунтуються на наявних загальних механізмах стійкості для ізольованих клітин і цілих рослин [15].

Переваги клітинної селекції над традиційними методами полягають насамперед в: економії місця й можливості працювати з великими вибірками генотипів; більшій швидкості скринінгу селекційного матеріалу; менших матеріальних витратах, можливості контролювати умови зовнішнього середовища. Крім того, генетичні зміни можна посилювати створенням нових генетичних комбінацій, їх доборою та передачею регенерантам, а також добитися стійкості до кількох стресових чинників [9, 16, 19, 78].

Незважаючи на певні складнощі, на сьогодні в багатьох провідних країнах світу клітинна селекція є важливим компонентом селекційної роботи й доповнює класичні методи добору. Здебільшого селекцію *in vitro* застосовують для отримання форм пшениці, стійких до біотичних (патогени, токсини чи їх аналоги) [1, 7, 11, 53] та абіотичних (екстремальні температури, водний дефіцит, засолення, токсичні метали, солі важких металів, гербіциди, ультрафіолетове опромінення) стресорів [23, 35, 38, 40, 42, 56, 88].

Відомо, що значна частина загального врожаю пшениці втрачається внаслідок хвороб. Хоча існують фунгіциди від багатьох хвороб зернових, інколи їх складно застосувати через високу вартість, несприятливі погодні умови й можливі негативні екологічні наслідки. Тому для селекціонерів вкрай важливим завданням є створення сортів рослин, генетично стійких до біотичних стресорів.

На сьогодні практично важливими, проте найскладнішими у здійсненні й досягненні результативності, є біотехнологічні системи отримання, добору та оцінювання рослин, стійких саме до грибних патогенів [49]. Роботи в цьому напрямі особливо актуальні також з огляду на той факт, що серед усіх хвороб, якими уражується м'яка пшениця, понад 50 % становлять грибні, чільне місце серед яких посідають кореневі гнилі. Однак для успішного застосування біотехнологічних методів необхідно подолати чимало складнощів, пов'язаних як із недостатністю знань з генетики збудника, так і з відсутністю чітких уявлень про фізіологічну основу взаємодії патогену й рослини-хазяїна та роль метаболітів, які виділяються ними в контакті.

Для м'якої пшениці найнебезпечнішою хворобою, основним збудником якої є гриб *Fusarium graminearum* Schwabe, вважають фузаріоз колоса. Ураження патогеном призводить до значного зниження врожаю та якості зерна, накопичення мікотоксинів, отруйність і канцерогенність яких роблять його непридатним для продовольчих та фуражних цілей. Існує понад 200 штамів збудника з різними ступенями агресивності. У зв'язку з цим необхідно розробити таку біотехнологічну систему, в якій можливо було б моделювати умови отримання толерантних варіантів із кумулятивною стійкістю до різних за патогенністю штамів цього збудника й робити це у коротші строки, ніж традиційна селекція.

У літературі наводяться успішні приклади клітинної селекції пшениці з використанням очищених токсинів *Fusarium* [91]. Ці результати підтверджують можливість утворення генного комплексу, відповідального за зменшення сприйнятливості до токсину. У створених ліній були значно нижчими індекс розвитку хвороби, ураження колоса, висота стебел та ліпші показники урожайності порівняно з відомим китайським сортом Sumai 3, стійким до фузаріозу колоса. Серед ліній пшениці,

відібраних на селективних середовищах, отримано такі, стійкість до фузаріозу яких у 5–7 разів перевищувала стійкість вихідних форм, причому частину таких ліній виділено від сприйнятливих донорів [57]. Перспективним напрямом селекції *in vitro* є метод гаплоїдії, або культури пиляків, який дає змогу створювати стабільні форми подвоєних гаплоїдів на селективному фоні патогену, що має низку переваг [66].

Можливість застосування клітинної селекції для добору форм пшениці, стійких до септоріозу листків (збудник *Septoria tritici* Rob, ex Desm.), описано в багатьох роботах. Отримано лінії, нечутливі до токсинів за їх концентрації 10 мг/л, причому встановлено кореляцію між стійкістю *in vitro* і стійкістю до патогену на рівні цілих рослин. Одним із компонентів підвищеної стійкості регенерантів було уповільнення розвитку хвороби [20].

Кореневі гнилі. Під цією назвою об'єднано щонайменше шість хвороб (церкоспорельоз, офіобольоз, побуріння основи стебла (фузаріоз), фузаріозна коренева гниль, звичайна (гельмінтоспоріозна) коренева гниль, ризоктоніоз кореневої системи та прикореневої частини стебла), що мають подібні симптоми. В роботах із клітинної селекції найчастіше використовують токсичні метаболіти таких збудників корневих гнилей, як *Pseudocercospora herpotrichoides*, *Fusarium oxysporum*, *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, *Helminthosporium sativum* [2, 21, 31]. Для озимої м'якої пшениці розроблено біотехнологію, що забезпечує отримання подвоєних гаплоїдів для пришвидшеного створення форм, стійких до фузаріозних корневих гнилей. Експериментально доведено, що ознака стійкості до фузарієвої кислоти калюсних тканин корелює зі стійкістю рослин, вирощуваних на штучному інфекційному фоні з патогенами [22].

Гельмінтоспоріоз — звичайна, або гельмінтоспоріозна, коренева гниль (*Bipolaris sorokiniana* Shoem, синонім *Helminthosporium sativum* Pamel, King & Bakke). Отримано рослини-регенеранти, що виявляли стійкість до збудника гельмінтоспоріозу в польових умовах у кількох насінневих поколіннях [77].

Церкоспорельозна коренева гниль. У результаті добору на селективних середовищах отримано до 10 % стійких регенерантів. Ураження стебел в умовах штучного інфекційного фону в окремих ліній, отриманих зі стійкого сорту Roazon, було у 8,7 раза меншим порівняно зі стандартом. При цьому кількість рослин з найвищим балом ураження в поколінні R₃ була на порядок меншою [8].

Офіобольозна коренева гниль. Однією з найбільш шкодочинних хвороб вважають офіобольоз, збудником якого є *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, J. Walker. Втрати зерна від офіобольозу можуть перевищувати 65 %. Навіть незначне ураження кореневої системи рослин призводить до зниження врожаю. Для багатьох країн Європи, в тому числі й України, ця хвороба може бути основною причиною втрат урожаю пшениці та ячменю. В роду *Triticum* джерел стійкості до офіобольозу досі не знайдено. Гени стійкості до цього збудника є у вівса, проте зазначені види надто віддалені для перенесення генів класичними методами. Альтернативою стала технологія клітинної селекції.

В Інституті фізіології рослин і генетики НАН України вперше методом прямого добору *in vitro* отримано стійкі до метаболітів збудника офіобольозної кореневої гнилі клітинні лінії м'якої пшениці та індуковано з них рослини-регенеранти. Комплексна оцінка рівня стійкості рослин насінневого покоління R₂ та насіння R₃ підтвердила стійкість от-

риманих біотехнологічним шляхом форм до збудника офіобольозу та його метаболітів [3, 6]. Вперше показано, що у стійких до культурального фільтрату *G. graminis* var. *tritici* рослин пшениці наявні специфічні ISSR-амплікони, що може свідчити про потенційну можливість їх використання як маркерів стійкості до офіобольозу [4].

Крім селекції на стійкість до збудників грибних хвороб проводиться клітинна селекція і на стійкість до збудників бактеріальних хвороб. Зокрема в культурі незрілих зародків із використанням сирінгоміцину (неспецифічний токсин) отримано п'ять ліній пшениці з підвищеною стійкістю до *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* [69]. І хоча ці рослини за стійкістю неістотно відрізнялися від контрольних, результати дослідів переконливо свідчать про перспективність такого підходу.

Клітинну селекцію *in vitro* використовують також і для створення форм пшениці, стійких до шкідників. Дослідники застосували екстракт отрути, яку вводять у рослини російська попелиця (*Diuraphis noxia*) як селективний чинник для отримання стійких форм. Із калюсних культур надчутливого сорту Стефенс отримано соматоклональні варіанти, стійкі до попелиці як у насінневому поколінні R₂, так і R₃. Крім того, вони були стійкими до скручування та хлорозу листків [93].

Разом з отриманням нових форм пшениці, стійких до біотичних стресорів, значні зусилля біотехнологів спрямовані також на створення генотипів, толерантних і до абіотичних стресових чинників.

Водний дефіцит — один із найголовніших обмежувальних чинників довкілля, які знижують продуктивність рослин. Стійкість до водного дефіциту є дуже складною ознакою, контрольованою багатьма різними генами. На сьогодні все ще незрозуміло, чи морфологічні ознаки, чи фізіологічні аспекти важливіші для стійкості. Зроблено кілька спроб отримати стійкі до водного дефіциту форми пшениці в культурі *in vitro* [32, 40, 58]. Соматоклональну варіабельність використано як джерело мінливості для поліпшення посухостійкості генотипів твердої пшениці (*Triticum durum* Desf.). Отримано рослини-регенеранти з підвищеною стійкістю до водного дефіциту, причому стійкість успадковувалась як потомством R₁, так і рослинами R₂—R₄. Встановлено чітку позитивну кореляцію між стійкістю сорту й виживаністю калюсів на селективних середовищах та життєздатністю цих генотипів у польових умовах [61].

Засолення. Протягом останніх 30 років неодноразово робилися спроби отримати стійкі до засолення форми пшениці методами культури *in vitro* [37, 62, 92]. Виведено рослини, здатні рости за різних рівнів засолення. Для добору стійких до засолення форм пшениці також може бути корисним мутагенез *in vitro*, оскільки збільшує частоту і спектр мутацій у поєднанні зі швидшим отриманням рослин.

Екстремальні температури. Для селекції стійких до високотемпературного стресу форм озимої пшениці вчені кілька разів обробляли клітинні культури температурою 48 °С. Створено рослини з підвищеною стійкістю до високих температур, які синтезували певні білки [88]. Виведено лінії озимої пшениці з підвищеною толерантністю до заморозків і збільшенням вмістом проліну [56]. Дослідженням успадкування цих ознак встановлено, що в потомства F₁, отриманого від запилення регенерантів пилом дикого типу, вищі ступінь стійкості до морозу (нижче за LD₅₀) та вміст проліну порівняно як з рослинами-регенерантами, так і рослинами дикого типу. Крім того, стійкість до

заморозків зберігалась у рослин покоління F_3 , а в одного з відібраних мутантів спостерігалася і в F_4 .

Стійкість до дії іонів алюмінію. Клітинна селекція з використанням іонів алюмінію — один зі способів поліпшення стійкості зернових культур до дії іонів токсичних металів. Встановлено, що ступінь токсичності та ефективність селекції до цього стресора залежать від концентрації і способу дії. Так, у культурі пиляків та отриманих від них структур було відібрано стійкі лінії подвоєних гаплоїдів [41].

Стійкість до дії УФ-В-радіації. Вплив ультрафіолетового випромінювання сонячного спектра (УФ-радіація), яке досягає поверхні Землі, на рослинні об'єкти привертає пильну увагу вчених у зв'язку зі змінами стану озонового шару атмосфери. Значне його стоншення призводить до того, що на поверхні Землі підвищується рівень опромінення в діапазоні довжини хвиль 280—320 нм, який належить до УФ-ділянки спектра. Ультрафіолетове опромінення, діючи на ДНК, зумовлює значну кількість хромосомних аберацій у клітинах рослин, що є причиною підвищення рівня мутацій і негативно позначається на збереженні генофонду живих організмів. У зв'язку з цим дослідження дії УФ-В-радіації на рослинні об'єкти та отримання стійких до цього чинника форм має важливе господарське значення. В результаті індивідуального добору за ознакою приросту маси було виділено кілька клітинних ліній, здатних зберігати високий рівень приросту за дії УФ-В-опромінення [23].

Завдання створення рослин, толерантних одночасно до кількох стресових чинників, стає дедалі актуальнішим у зв'язку з глобальними змінами клімату. Дослідження природи адаптивних реакцій рослин до дії різних стресів свідчить про існування як специфічних, так і загальних механізмів розвитку стійкості. Під впливом загальних неспецифічних механізмів створення стійкості в рослин, резистентних до одного несприятливого чинника, може підвищуватись стійкість і до інших. Відібрані рослини здатні виявляти стійкість до двох і більшої кількості типів стресу, іноді навіть не подібних за фізико-хімічною природою та мішенями дії. З використанням добору *in vitro* експериментально підтверджено можливість отримання рослин, стійких до кількох стресових чинників [86]. Наприклад, створено регенеранти кукурудзи, стійкі не тільки до посухи, а й до засолення та низької температури [12], форми тютюну, стійкі не тільки до цих чинників, а й до чорної кореневої гнилі [13]. Це розкриває перспективи для подальшого вдосконалення біотехнології виведення нових форм із комплексною стійкістю до стресів.

Успіхи селекції на стійкість пшениці до комплексу стресових чинників нині поодинокі, оскільки толерантність контролюється багатьма генами, а їх одночасний добір — складне завдання. Встановлено закономірності формування крос-адаптації до осмотичного стресу м'якої пшениці за дії солей свинцю, кадмію та міді в широкому діапазоні концентрацій [17]. З'ясувалось, що крос-адаптація формується під впливом додаткового стресового чинника під час адаптації рослини за умови ще не виснаженого адаптаційного потенціалу захисних систем, що беруть участь у цьому процесі.

В Інституті фізіології рослин і генетики НАН України вперше розроблено ефективну біотехнологію пришвидшеного отримання нових форм пшениці з підвищеною стійкістю до офіобольозної кореневої гнилі й водного дефіциту, створено рослини, стійкі до комплексу стресових чинників [14]. Розроблено біотехнологічні прийоми для отримання рос-

лин м'якої пшениці в культурі апікальних меристем пагонів, що у 2—3 рази збільшує коефіцієнт розмноження і скорочує час виведення цінних форм [18]. У стійких до водного дефіциту рослин-регенерантів пшениці на хромосомах 3А й 3В виявлено специфічні алелі гена *Dreb1*, що дає змогу диференціювати стійкі та нестійкі форми [5]. Експериментально обґрунтовано можливість отримання методом селекції *in vitro* рослин цієї культури, стійких до комплексу стресових чинників, що вдосконалює біотехнологічні прийоми розширення генетичного потенціалу пшениці.

Отже, методом клітинної селекції можна створити оригінальні генотипи пшениці, тоді як класичні методи потребують для цього значно тривалішого часу і менш ефективні. Літературні дані підтверджують можливість використання цього методу для розширення генетичного потенціалу і створення нових вихідних форм зазначеної культури й поліпшення вже існуючих за багатьма параметрами. Методи клітинної селекції поступово вдосконалюються, спектр різних мутантів, отриманих *in vitro*, з кожним роком розширюється. Подальший прогрес у клітинній селекції пшениці залежатиме не тільки від розвитку клітинних технологій, а й глибшого пізнання молекулярних механізмів регуляції та експресії генів. На цій основі, очевидно, будуть запропоновані нові схеми добору і селективні маркери для виділення *in vitro* цінних мутантів.

Найважливішим завданням генетиків, біотехнологів і селекціонерів була й залишається ідентифікація ефективності генів, які детермінують ознаки стійкості рослин до стресових чинників середовища. У провідних біотехнологічних центрах світу широко розгорнулись роботи зі створення нових форм сільськогосподарських рослин методами генетичної інженерії, оскільки розробки методів культури тканин у поєднанні з генетичною трансформацією пропонують значно ширшу сферу для поліпшення толерантності злаків до стресів.

Генетична інженерія рослин — це технологія створення генетично модифікованих форм перенесенням функціонально активних генетичних структур (рекомбінантних ДНК), сконструйованих *in vitro*, в ДНК організму, що модифікується. При цьому рекомбінантні ДНК стають складовою частиною генетичного апарату реципієнтного організму і надають йому нових унікальних генетичних, біохімічних, а потім і фізіологічних властивостей. Генетичну модифікацію рослин можна здійснювати за допомогою спеціальних векторів або прямим перенесенням генів. Найпоширенішим методом для рослин є генетична трансформація з використанням бактерії *Agrobacterium* як біологічного вектора для передачі екзогенних Т-ДНК в рослинну клітину.

Генетично модифіковані (ГМ) сільськогосподарські культури поступово завойовують світ. Річний оборот світової біоіндустрії нині перевищує 160 млрд дол. США. За інформацією International Service for the Acquisition of Agri-Biotech Applications (ISAAA), з 1996 р. і до кінця 2014 р. загальна площа посівів ГМ-культур зросла більш як у 89 разів і нині становить близько 185,3 млн га — 12 % усіх посівних площ світу. На сьогодні ГМ-культури вирощують у 32 країнах. У цілому біотехнологічні культури дозволені для виробничого використання в 59 країнах, де проживає 75 % населення Землі. Лідером за цим показником є США (близько 69 млн га), а за темпами приросту площ, відданих під ГМ-культури, разом зі США й Канадою передові позиції займають Бразилія й Аргентина. Швидко збільшуються площі під ГМ-культурами в азієських країнах (Китай, Індія), на Африканському континенті (Південна Афри-

ка, Буркіна-Фасо, Єгипет). На цьому фоні досить слабкою видається Європа, де трансгенні культури вирощують лише в Іспанії, Португалії, Чехії, Румунії та Словаччині. В цих країнах ГМ-ріпаком і кукурудзою засівають усього 129 тис. га угідь.

Прибуток від вирощування ГМ-культур у світі за 1996—2005 рр. досягнув ~27 млрд дол. США. За опублікованими в засобах масової інформації даними, за період 1996—2008 рр. у країнах, які виробляють ГМ-культури, прибуток від рослинництва зріс на 51,9 млрд дол. США, приріст урожаю сягнув 167 млн т за рахунок підвищення врожайності. З'явилася біотехнологічна можливість створювати сорти з необхідними харчовими якостями (підвищений вміст білка, крохмалю, вітамінів, знижений вміст клітковини та ін.) та посиленими агроекологічними властивостями (стійкість до пестицидів, посухи, заморозків, шкідників і збудників хвороб, підвищена засвоюваність мінеральних добрив та ін.), внаслідок чого знижується собівартість продукції.

Підраховано, що застосування ГМ-технологій дало змогу скоротити використання гербіцидів на 8,8 % і тим самим запобігти внесенню 393 млн т пестицидів та ослабити вплив на навколишнє середовище на 20 % порівняно з тими, які, ймовірно, були б досягнуті в разі засівання всіх площ тільки традиційними сортами рослин. Стійкі до гербіцидів культури уможливають використання мінімального і нульового обробітку ґрунту, що знижує його ерозію. Поліпшилась якість продуктів харчування, виготовлених із культур, стійких до пошкодження комахами. Наприклад, у кукурудзі не виявлено пестицидів і мікотоксину, що викликає рак. У виробництво щорічно вводяться нові ГМ-рослини. Так, із 2010 р. у США й Канаді вирощують кукурудзу Smart Stax із 8 впровадженими генами, що визначають 3 нові корисні ознаки [67], в ЄС — сорт картоплі Амфлора зі збільшеним вмістом крохмалю. З 2012 р. на Філіппінах, в Індії, Індонезії, Малайзії та В'єтнамі почали вирощувати стійкий до пірикуляріозу «золотий рис»; в 2012—2013 рр. у Китаї впроваджені ГМ-рис і збагачена ферментом фітазою кукурудза. З 2012 р. у США вперше почали культивувати трансгенну кукурудзу, стійку до посухи, із 2017 р. очікується вирощування посухостійкої кукурудзи в субпустелях Африки.

Першу генерацію трансгенних культур було створено для підвищення їх стійкості до вірусних інфекцій, гербіцидів і комах [84], другу — сформовано до 2005 р., вона продовжує активно розвиватися. При її створенні враховувалися такі вимоги: 1) стійкість до абіотичних стресорів — посухи, засолення, забруднення ґрунту важкими металами, низьких і високих температур; 2) стійкість до бактеріальних і грибних хвороб; 3) стійкість до гербіцидів; 4) поліпшення смакових та ароматичних властивостей продуктів харчування; 5) підвищення поживної цінності продуктів (білки, жири, вітаміни, мінерали); 6) можливість тривалого зберігання фруктів і овочів; 7) усунення алергенів; 8) використання трансгенних рослин для біофармацевтики — виробництва вакцин, терапевтичних білків людини, фармацевтичних препаратів; 9) можливість застосування модифікованих культур для фіторемерації [67].

До 2020 р. заплановано створити третю генерацію сільськогосподарських трансгенних рослин, ліпше адаптованих до стресових впливів, із підвищеними харчовими і біофармацевтичними властивостями. При створенні третьої генерації трансгенних рослин вирішуються такі завдання: 1) секвенування геномів рослин, виявлення функцій окремих генів та розробки на цій основі молекулярної селекції; 2) можливість зміни

архітектоніки рослин; 3) керування часом цвітіння; 4) контроль якості та кількості насіння; 5) підвищення ефективності фотосинтезу; 6) поліпшення асиміляції поживних речовин із ґрунту; 7) керування гетерозисом і апоптозом [24].

Слід зазначити, що використання трансгенних культур викликає певну стурбованість громадськості багатьох країн, у тім числі й України. Проблема полягає в потенційному впливі трансгенних культур на навколишнє середовище, оскільки внаслідок переапилення і горизонтального перенесення генетичного матеріалу можливе неконтрольоване поширення селективних генів у природних популяціях рослин або мікроорганізмів. Небезпека горизонтального перенесення генів стійкості до антибіотиків кишкової мікрофлорі тварин і людини, а також вертикального перенесення генів стійкості до гербіцидів бур'янам сприймається як основна проблема біологічної небезпеки ГМ-культур. Хоча потік генів — це природний процес, існування селективних маркерних генів неприродне для рослин, яким вони надають нових властивостей, таких як стійкість до антибіотиків чи гербіцидів. У зв'язку зі зростаючими побоюваннями споживачів з приводу використання генів стійкості до антибіотиків у трансгенних формах постала проблема розробки методів отримання модифікованих рослин нового покоління без «генетичного сміття», до якого належать селективні й скринінгові гени-репортери. Останніми роками розроблено кілька нових стратегій отримання «безмаркерних» трансгенних форм [72, 83]. Дедалі більшого поширення набувають позитивні маркери, які не потребують використання токсичних речовин при отриманні трансгенних форм [90].

Протягом останніх років у біотехнології рослин дослідники застосовують техніку генетичної трансформації пластид як альтернативу звичайній технології трансформації ядерної ДНК [63, 87]. Серед екологічних проблем, порушених при створенні генно-інженерних організмів, є та, що трансгени можуть передаватися («трансгенний потік», процес руху трансгенів при повторній гібридизації) через пилок у споріднені види, які зростають у природному середовищі чи агроценозах. Оскільки пластиди успадковуються по материнській лінії в більшості покритонасінних видів, вставка трансгенів у геном пластид має запобігати потоку генів через пилок. Отже, гени, вбудовані в пластом, не передаватимуться через запилення до диких родичів трансгенних рослин. Оскільки пластиди передаються в основному через «материнське успадкування» як ідентичні копії, материнська рослина передаватиме їх усьому насінню, яке утворюється і не змінюється від покоління до покоління, що важливо для стабільної передачі чужорідної ДНК. Транспластомна технологія також може бути корисною для фіторе-медіації й підвищення стійкості до стресових чинників, таких як хвороби і шкідники, посуха, засолення, заморозки, що можуть серйозно загальмувати ріст і розвиток рослин [74].

На сьогодні біотехнологічне поліпшення рослин обмежується переважно введенням окремих нових генів у геноми цільових видів. Однак багато агрономічних ознак може залежати від складної взаємодії кількох генів, і для біотехнологічного поліпшення конкретного виду можуть знадобитися доставка й експресія цілого генного комплексу. Крім того, генетична модифікація комерційно важливих видів рослин також потребує розробки нових інструментів для видалення і заміни існуючих трансгенів у клітинах рослин. У біотехнології рослин розглядають дві основні про-

блеми: розвиток тієї чи іншої технології для об'єднання кількох трансгенних ознак в одній рослині шляхом вбудовування низки генів в один і той самий хромосомний локус одним масивом та послідовні маніпуляції з цим масивом для редагування геному [81, 89]. У Мічиганському університеті США розроблено касетну систему векторів, яка одночасно несе до дев'яти генів. Проведено успішну трансформацію протопластів арабідопсису, показано стабільну експресію всіх введених трансгенів [50]. У геном рису доставкою на двох незалежних молекулах Т-ДНК було одночасно вбудовано вісім різних генів [70].

Впровадження корисних ознак у геном пшениці за допомогою генетичної трансформації. Стійкість до біотичних стресорів. Інтеграція трансгенних підходів із класичними методами селекції пропонує потенційно екологічно чисте рішення боротьби зі шкідниками та збудниками хвороб. Інтрогресію генів від диких родичів, стійких до шкідників і патогенів, успішно застосовують протягом багатьох років для створення стійких сортів пшениці. З метою підвищення стійкості до різних шкідників і патогенів у пшеницю вводять гени, що кодуєть оболонки вірусних і протигрибних білків, інгібіторів протеїназ [68, 75, 76].

Більшість робіт із генної інженерії пшениці на стійкість до біотичного стресу присвячена розробці захисту від патогенних грибів. Серед різних стратегій щодо впровадження стійкості до грибних хвороб методами генетичної інженерії є підвищення захисту рослини-хазяїна. Біохімічні та структурні відповіді на дію грибів включають зміцнення клітинної стінки рослин, накопичення фітоалексинів, рибосом інактивуючих білків, які інгібують синтез білка, антимікробних пептидів, інших білків захисту [46].

У результаті введення у пшеницю генів ячменю, що кодуєть хітинази, збільшилась стійкість до гриба *Erysiphe graminis* [45, 47]. Підвищують стійкість рослин пшениці до грибних патогенів також гени, які кодуєть тауматинподібний білок [64]. Зростання стійкості до ендегенного *Tilletia tritici* досягнуто введенням протигрибного білка, що кодується вірусом [51]. Введення генів лектинів та інгібітора протеїнази для підвищення стійкості пшениці до комах привели до гальмування їх росту на трансгенному насінні, тим самим зменшуючи плодючість їх популяції [68].

Стійкість до абіотичних стресорів. Пряме введення невеликого числа генів методами генетичної інженерії — швидкий підхід до поліпшення толерантності рослин. Нинішні інженерні стратегії полягають у передачі одного чи кількох генів, які кодуєть або біохімічні шляхи, або кінцеві точки сигнальних шляхів. Ці генні продукти забезпечують певний захист від абіотичних стресорів безпосередньо чи опосередковано [54].

Рослини пшениці з трансгеном *mtlD*, що кодує манітол-1-фосфатдегідрогеназу з *Escherichia coli*, за осмотичного стресу, індукованого добавлянням ПЕГ, ліпше адаптувались до стресових умов та накопичували біомасу, яка не відрізнялась від такої за безстресових умов [34].

Гліцинбетаїн — осмопротектор, який відіграє важливу роль і швидко акумулюється за умов посухи чи засолення. Рослини м'якої пшениці, трансгенні за геном *betA*, який кодує холіндегідрогеназу з *E. coli*, менше потерпали від посухи порівняно з рослинами дикої типу, що виявлялось у більшій довжині корінців та інтенсивнішому рості [59].

Трансгенні рослини твердої пшениці (*Triticum durum*), отримані на основі комерційного сорту Карім, що експресували ALSAP (білок,

пов'язаний зі стресом, зі злаку-галофіта *Aeluropus littoralis*), мали ліпші показники схожості й нарощування біомаси за умов засолення та осмотичного стресу. В результаті досліджень у теплиці виявлено, що *AISAP*-лінії продукували нормальне виповнене зерно після довготривалих сольового чи водного стресів, у той час як рослини дикого типу або гинули на вегетативній стадії за сольового стресу, або формували значно менш виповнене зерно за умов посухи [44].

Гени, що кодують пізні білки ембріогенезу (LEA), які накопичуються протягом висихання насіння, а в рослинних тканинах — коли вони відчують нестачу води, останнім часом є привабливими кандидатами для застосування в генетичній інженерії на посухостійкість. Трансгенний підхід використаний для успішного впровадження бомбардуванням у пшеницю гена пізнього ембріогенезу ячменю *HVA1* [79]. Загалом у трансгенних ліній, які експресували ген *HVA1*, поліпшились характеристики росту, в тому числі збільшився вихід біомаси за дефіциту води.

Відкриття коротких інтерферуючих РНК дало принципово нові можливості для генетичного поліпшення культурних рослин. З'ясування молекулярних основ біогенезу цих РНК, їхніх функцій як можливих регуляторних молекул, відкрило нові можливості для регуляції процесів адаптації/стійкості рослин, привело до розробки нового напрямку генетичної інженерії — *si*РНК-технологій [30]. Співробітники Інституту фізіології рослин і генетики НАН України є піонерами в нашій державі з розробки *si*РНК-технологій, зокрема біотехнологічних підходів отримання стійких до посухи інбредних ліній кукурудзи й соняшнику, генотипів пшениці з використанням дволанцюгового РНК-супресора гена проліндегідрогенази [10, 25, 82]. Ці початкові дослідження показали перспективність технологій коротких інтерферуючих *si*РНК для підвищення осмотолерантності однодольних рослин.

Австралійська компанія «Plant Biotechnologic Centre» створила посухостійку пшеницю, яка за польових випробувань дала 20 % приріст урожаю за умов посухи порівняно з контролем.

У Китаї також створено кілька десятків ліній посухостійкої пшениці. Фірма «Monsanto» має намір до 2030 р. подвоїти врожайність біотехнологічної пшениці за рахунок поліпшення засвоєння рослинами добрив, збільшення ефективності фотосинтезу, зміни архітекtonіки рослин. Нові сорти споживатимуть на третину менше прісної води, що дуже важливо за її зростаючого дефіциту.

Зазначимо, що нині у світі є більш як 10 000 ліній ГМ-пшениці, в тому числі з такими рідкісними генами, як ген скорпіона, який надає їй посухостійкості. В різних країнах випробовують понад 500 ліній ГМ-пшениці, стійких до фузаріозу колоса, вірусу смугастої мозаїки листків, борошністої роси, попелиці, клопа-черепашки, гербіциду білофосу, водного дефіциту, засолення, низьких температур.

Поліпшення харчових якостей пшениці. Високобілкова пшениця — важливе джерело рослинного білка в харчовому раціоні людини. Одним із завдань застосування трансгенних технологій для поліпшення поживної цінності зерна пшениці є підвищення його якості, а саме: збільшення вмісту білка, незамінних амінокислот, таких як лізин, високомолекулярних глютенінів для поліпшення хлібопекарських властивостей пшеничного борошна; модифікація крохмальної композиції та об'єму; виробництво фармацевтичної продукції та нутрицевтиків.

Борошно м'якої пшениці, серед зернових, здатне утворювати квасне тісто. Це пов'язано зі структурою і складом білків зерна, під час гідратації яких можливе утворення глютену — нерозчинного, але дуже зволоженого й в'язкоеластичного агрегата, що надає пшеничному тісту унікальних властивостей. Хоча більшість білків зерна пшениці бере участь в утворенні клейковини, згідно з біохімічними й генетичними даними, висока молекулярна маса субодиниць глютенінів відіграє важливу роль у формуванні в'язкопружних властивостей тіста і тим самим визначає хлібопекарські якості борошна. Високомолекулярні глютеніни необхідні для створення сильного тіста, що вкрай важливо для отримання високоякісного дріжджового хліба.

Генетична трансформація пшениці є ключовим компонентом у схемі, що пропонує повний набір біотехнологій для поліпшення якості зерна прямим уведенням генів високомолекулярних глютенінів [85]. Ген *Glu1Ax*, що забезпечує високу якість випікання хліба, був уведений в сорт Bobwhite, його стабільність протягом кількох поколінь підтримувалася на високому рівні [36]. Трансформація одним або двома генами субодиниць високомолекулярних глютенінів привела до їх ступінчастого збільшення та зміни полімерної зборки і композиції клейковини [43]. Крім того, надекспресія високомолекулярної субодиниці *Glu1Dx5* у трансгенній пшениці (*T. aestivum*) зумовила чотириразове збільшення частки цього компонента білка насіння та відповідне збільшення пропорції загального білка і глютенінів [73]. Продемонстровано також зростання еластичності тіста.

Дослідження стосовно підвищення якості виконували на твердих сортах пшениці введенням однієї або двох субодиниць генів високомолекулярних глютенінів з *X* та *Y* типами (*Glu1Ax1* або *Glu1Dx5*) [60]. Аналізом експресії додаткових субодиниць у T_2 поколінні трансгенних рослин із використанням міксографа виявлено збільшення міцності тіста.

Нині пшеничний крохмаль модифікують у різних лабораторіях світу з метою поліпшення його потенційної користі. Пшениця переважно складається з крохмалю, що є сумішшю двох полімерів — майже лінійних молекул амілози і сильно розгалужених молекул амілопектину. Співвідношення амілози й амілопектину в крохмалі визначає його фізико-хімічні характеристики та кінцеве використання. Бажано отримати пшеничне борошно з низьким вмістом амілози, оскільки в такому разі поліпшується текстура локшини. Вчені працюють над збільшенням вмісту амілопектину в крохмалі й тим самим — зменшенням у ньому вмісту амілози [39, 65]. Для підвищення рівня каротиноїдів у зерні було створено трансгенну елітну пшеницю, в ендоспермі зерна якої експресується ген фітоенсинтази кукурудзи [52].

Зниження експресії глюкан, вододікінази (першого ферменту, необхідного для фосфорилування крохмалю) під контролем ендосперм-специфічного промотору внаслідок РНК-інтерференції призводило до зменшення вмісту фосфорильованого крохмалю в зерні м'якої пшениці (*Triticum aestivum* L.) [71], що супроводжувалось збільшенням вегетативної маси, розміру зернин і врожаю зерна до 29 % у наступних поколіннях, вирощених як у теплиці, так і за польових умов.

Пшеницю широко використовують як корм для нежуйних тварин у багатьох розвинених країнах світу. З метою поліпшення засвоєння зер-

на тваринами, а також підвищення біодоступності фосфату і мінералів було створено трансгенну пшеницю, що експресує в ендоспермі ендоксиланазу з *Bacillus subtilis* та естеразу ферулової кислоти з *Aspergillus niger* [48].

Пшениця є ідеальною системою для виробництва нових сполук, оскільки чудово зберігається та піддається ефективній переробці. Потенційні продукти містять біологічно активні білки і пептиди. Повідомлялося про отримання із пшениці медично важливих однокланцюгових рекомбінантних антитіл проти раково-ембріонального антигена [80]. Рекомбінантні антитіла виявлено в листках і насінні. Ї що найважливіше — рекомбінантні антитіла залишалися активними після тривалого зберігання насіння за кімнатної температури, а це відкриває можливість для подальшого використання пшениці для отримання нових сполук.

Чоловіча стерильність. Виробництво гібридів — важливий компонент програм селекції сільськогосподарських культур. Розвиток відповідної системи гібридизації пшениці потребує високого ступеня чоловічої стерильності в усіх частинах жіночого компонента, щоб запобігти самозапиленню. Розроблено систему ядерної чоловічої стерильності пшениці введенням гена барнази під контролем промотору тапетуму [55]. Експресія цього гена на конкретній стадії розвитку пиляків руйнує тапетум і тим самим порушує нормальний розвиток пиляку та спричинює його стерильність. У цій системі використовують інгібітор рибонуклеази *барстар* гена для відновлення фертильності чоловічостерильних рослин.

Підсумовуючи, слід зазначити, що біотехнологічні методи відіграють значну роль у селекційному процесі, оскільки дають змогу з високою ефективністю створювати різноманітний вихідний матеріал, отримувати стійкі генотипи, безпосередньо впливати на генетичний апарат рослин, що скорочує обсяги й тривалість селекційних схем. Технології *in vitro* підвищують ефективність селекції в результаті розширення генетичного базису, пришвидшеного створення й відбору нових вихідних форм із необхідними корисними ознаками. Молекулярна ізоляція агрономічно важливих генів і з'ясування їхньої дії сприятимуть селекції нових сортів пшениці. За наявності докладної інформації про місцезнаходження і функцію гена (генів) корисних ознак вчені в майбутньому будуть добре оснащені знаннями для ефективного створення сортів із точними комбінаціями бажаних ознак. Генетична трансформація залишиться важливим інструментом для з'ясування функцій генів і для тестування корисності нових послідовностей. Нові інструменти біотехнології не тільки мають потенціал для збільшення ефективності та результативності селекційних програм пшениці, а й покликані дати відповідь стосовно генетичного контролю ключових ознак, які використовуватимуться для генетичних маніпуляцій.

Потенціал можливостей і спектр застосування біотехнології перетворив галузь, поряд із нанотехнологіями, на провідний чинник розвитку економік окремих держав і світової спільноти в цілому. На тлі активного поширення та впровадження біотехнології в різних секторах світової економіки з'явився термін «біоекономіка», що характеризує економіку, засновану на використанні поновлюваних біоресурсів і включає сільське господарство, біофармацевтику, харчову, лісову, целюлозно-па-

перову промисловість, рибництво, а також виробництво ферментів і біопалива, біоремедіацію ґрунтів і води.

В Інституті фізіології рослин і генетики НАН України проводяться дослідження з генетичного поліпшення пшениці в поєднанні класичних методів селекції (гібридизація, експериментальний мутагенез) із новітніми молекулярно-генетичними методами, клітинною біотехнологією, генетичною інженерією, маркерною селекцією. Розроблено і впроваджено в селекційний процес методи паспортизації сортів та ідентифікації: пшенично-житніх транслокацій і низки генів стійкості до біотичних та абіотичних стресів; алеля *Glu-B1a1*, який чинить сильний позитивний вплив на якість борошна; високоамілозної та ваксі пшениць зі зміненим, більш дієтичним складом крохмалю; перенесеного з *Triticum turgidum* ssp. *dicoccoides* гена *Gpc-B1*, відповідального за підвищений вміст білка, мікроелементів Zn, Mn, Fe; проводиться робота щодо поліпшення деяких інших ознак якості зерна [26–29].

У творчій співпраці з науковцями Національної академії аграрних наук України створено високопродуктивні сорти озимої пшениці Смуглянка, Золотоколоса, Подолянка, Фаворитка, Богдана та інші, які висівають на площі 1,7 млн га, а також вихідний селекційний матеріал за переліченими вище ознаками.

1. *Ананияев Б.Б., Рсалиев Ш.Т., Сарбаев А.Т.* Ускоренная селекция на устойчивость к биотическим факторам окружающей среды *Triticum aestivum* L. методом гаплоидной биотехнологии // Докл. Россельхозакадемии. — 2002. — № 4. — С. 15–17.
2. *Бавол А.В., Дубровна О.В., Лялько І.І.* Добір та цитологічний аналіз стійких до культурального фільтрату *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* клітинних ліній пшениці та регенерантів з них // Вісн. Укр. т-ва генетиків і селекціонерів. — 2008. — 6, № 2. — С. 191–200.
3. *Бавол А.В., Дубровна О.В., Лялько І.І.* Селекція in vitro м'якої пшениці на стійкість до *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* // Физиология и биохимия культ. растений. — 2009. — 41, № 4. — С. 314–320.
4. *Бавол А.В., Дубровна О.В.* Молекулярно-генетичний поліморфізм клітинних ліній пшениці, стійких до культурального фільтрату *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* та регенерантів з них // Цитологія і генетика. — 2009. — 43, № 5. — С. 28–34.
5. *Бавол А.В., Дубровна О.В., Моргун Б.В.* Ідентифікація генів *Dreb1* у рослин-регенерантів м'якої пшениці, отриманих зі стійких до модельованого водного дефіциту калюсних ліній // Физиология растений и генетика. — 2014. — 46, № 2. — С. 136–142.
6. *Бавол А.В.* Клітинна селекція м'якої пшениці на стійкість до *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. — К., 2010. — 16 с.
7. *Волощук С.І., Волощук Г.Д., Гірко В.С.* Використання клітинних технологій in vitro в селекції озимої пшениці на стійкість до грибних патогенів // Генетика і селекція в Україні на межі тисячоліть. — К.: Логос, 2001. — Т. 1. — С. 625–634.
8. *Волощук С.І., Волощук Г.Д., Гірко В.С.* Створення вихідного матеріалу озимої пшениці, стійкого до грибних патогенів, методами клітинної селекції // Захист рослин. — 1998. — № 8. — С. 4–5.
9. *Волощук С.І.* Клітинна селекція пшениці на стійкість до *Fusarium graminearum* Schwabe: Автореф. дис. ... канд. с.-г. наук. — К., 2006. — 16 с.
10. *Воронова С.С., Гончарук О.М., Бавол А.В., Дубровная О.В.* Генетическая трансформация мягкой пшеницы с использованием векторных конструкций, содержащих гены метаболизма пролина // Вісн. Укр. т-ва генетиків і селекціонерів. — 2015. — 13, № 1. — С. 28–33.
11. *Джос Л., Калашикова Е.* Клеточная селекция пшеницы на устойчивость к септориозу // С.-х. биотехнология: Избранные работы / Под ред. В.С. Шевелухи. — М.: Евразия+, 2000. — С. 61–71.

12. Долгих Ю.И. Соматоклонная изменчивость растений и возможности ее практического использования (на примере кукурузы): Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — М., 2005. — 35 с.
13. Дридзе И.Л. Использование аналога пролина для отбора стрессоустойчивых вариантов в культуре тканей сои и табака: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — М., 1990. — 24 с.
14. Дубровна О.В., Моргун Б.В., Бавол А.В. Біотехнології пшениці: клітинна селекція та генетична інженерія. — К.: Логос, 2014. — 375 с.
15. Дубровна О.В., Моргун Б.В. Клітинна селекція пшениці на стійкість до стресових чинників довкілля // Физиология и биохимия культ. растений. — 2009. — **41**, № 6. — С. 463 — 475.
16. Дубровна О.В., Чугункова Т.В., Бавол А.В., Лялько І.І. Біотехнологічні основи створення рослин, стійких до стресів. — К.: Логос, 2012. — 428 с.
17. Ерофеева Е.А. Возникновение кросс-адаптации к осмотическому стрессу у проростков пшеницы при действии солей тяжелых металлов. Материалы сайта «МГУ: Научные исследования» <http://msu-research.ru> [Электронный ресурс] Электронный документ — Режим доступа: <http://msu-research.ru/index.php/biology/8-gidrobiology/259-cross-adaptation>
18. Зінченко М.О., Дубровна О.В., Бавол О.В. Селекція in vitro м'якої пшениці на комплексну стійкість до метаболітів збудника офіобольозу та водного дефіциту // Вісн. Укр. т-ва генетиків і селекціонерів. — 2012. — **10**, № 1. — С. 20 — 27.
19. Калашникова Е.А. Биологические основы клеточной селекции растений // Докл. ТСХА. — 2003. — № 275. — С. 110 — 112.
20. Лаврова Н.В. Биотехнологические методы в клеточной селекции пшеницы на устойчивость к септориозу, вызываемому возбудителем *Septoria nodorum* // Актуальные проблемы науки в АПК. — Кострома: Изд-во Костром. гос. с.-х. акад. — 2002. — Т. 1. — С. 33—35.
21. Лаврова Н.В. Разработка и применение биотехнологий для получения устойчивых к фузариозу растений озимой пшеницы (гаплоидная) и огурца (меристемная, каллусная и микроспорогенная): Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — М., 2006. — 46 с.
22. Лаврова Н. В. Селекция пшеницы in vitro на устойчивость к фузариозу // Актуальные проблемы науки в АПК. — Кострома: Изд-во Костром. гос. с.-х. акад. — 2002. — Т. 1. — С. 36—38.
23. Лапшин П.В., Бутенко Р.Г., Шевелуха В.С. Клеточная селекция яровой мягкой пшеницы на устойчивость к действию УФ-Б-радиации // Изв. ТСХА. — 2001. — № 2. — С. 136—144.
24. Лобов В.П., Томилин М.В., Веселов А.П. Генетически модифицированные растения: достижения, перспективы и ограничения // Вестн. Нижегород. ун-та им. Н.И. Лобачевского. — 2010. — № 2. — С. 423—429.
25. Михальская С.И., Сергеева Л.Е., Матвеева А.Ю. и др. Повышение содержания свободного пролина в осмотолерантных растениях кукурузы с двухцепочечным РНК-супрессором гена пролиндегидрогеназы // Физиология растений и генетика. — 2014. — **46**, № 6. — С. 482—489.
26. Моргун В.В., Гаврилюк М.М., Оксьом В.П. та ін. Впровадження у виробництва нових, стійких до стресових факторів, високопродуктивних сортів озимі пшениці, створених на основі використання хромосомної інженерії та маркер-допоміжної селекції // Наука та інновації. — 2014. — **10**, № 5. — С. 40—48.
27. Моргун Б.В., Степаненко О.В., Степаненко А.І., Рыбалка О.І. Молекулярно-генетична ідентифікація поліморфізму генів Wx у гібридах м'якої пшениці за допомогою мультиплексних полімеразних ланцюгових реакцій // Физиология растений и генетика. — 2015. — **47**, № 1. — С. 25—35.
28. Моргун В.В., Тарасюк О.И., Починков В.М., Рыбалка А.И. Уникальные по качеству зерна селекционные линии пшеницы с редкими аллелями Gli/Glu-локусов // Там же. — № 4. — С. 302—309.
29. Моргун Б.В., Чугункова Т.В., Рыбалка О.І. та ін. Молекулярна ідентифікація алеля Glu-11a1 у сортах і лініях пшениці // Там само. — 2013. — **45**, № 4. — С. 290—295.
30. Тищенко Е.Н. Генетическая инженерия с использованием генов метаболизма L-пролина для повышения осмотолерантности растений // Там же. — 2013. — **45**, № 6. — С. 488—500.
31. Шевелуха В.С., Рогинская В. А., Хижняк С. В. Перспективы использования токсинов возбудителя обыкновенной корневой гнили зерновых в клеточной селекции // С.-х. биология. Сер. Биология растений. — 1992. — **3**. — С. 45—51.

32. *Abdel-Ghany H., Nawar A., Ibrahim M.* Using tissue culture to select for drought tolerance in bread wheat // New directions for a diverse planet: Proceedings of the 4-th Intern. Crop Science Congr. Brisbane, Australia, 2004. — P. 345.
33. *Abdelsamad A., Sayed O., Hayam F.* Development of drought tolerant double haploid wheat using biochemical genetic markers on in vitro culture // J. Appl. Sci. Res. — 2007. — 3. — P. 1589—1599.
34. *Abebe T., Guenzi A., Martin B., Cushman J.* Tolerance of mannitol-accumulating transgenic wheat to water stress and salinity // Plant Physiol. — 2003. — 131, N 4. — P. 1748—1755.
35. *Ahmed A.* Response of immature embryos in vitro regeneration of some wheat (*T. aestivum*) genotypes under different osmotic stress of mannitol // J. Agr. Sci. — 1999. — 30, N 3. — P. 25—34.
36. *Altpeter F., Vasil V., Srivastava V., Vasil I.* Integration and expression of the high-molecular-weight glutenin subunit 1Ax1 gene into wheat // Nature Biotech. — 1996. — 14. — P. 1155—1159.
37. *Aly M., Sabry S., Abdelfatah O., Elgharbawy H.* In vitro screening for the effect of sea water salinity stress on growth and biochemical characteristics of wheat *Triticum aestivum* L. // Int. J. Appl. Agricult. Res. — 2007. — 2, N 1. — P. 1—11.
38. *Arzani A., Mirodjagh S.* Response of durum wheat cultivars to immature embryo culture, callus induction and in vitro salt stress // Plant Cell, Tissue Organ Cult. — 1999. — N 58. — P. 67—72.
39. *Baga M., Nair R., Repellin A. et al.* Isolation of a cDNA encoding a granule-bound 152-kilodalton starch-branching enzyme in wheat // Plant Physiol. — 2000. — 124. — P. 253—264.
40. *Bajji M., Lutts S., Kinet J.* Physiological changes after exposure to and recovery from polyethyleneglycol induced water deficit in callus cultures issued from durum wheat (*Triticum durum*) cultivars differing in drought resistance // J. Plant Physiol. — 2001. — 156. — P. 75—83.
41. *Bakos F., Darko E., Ascough G. et al.* A cytological study on aluminium-treated wheat anther cultures resulting in plants with increased Al tolerance // Plant Breed. — 2008. — 127, N 1. — P. 236—240.
42. *Barakat M., Abdel-Latif T.* In vitro selection of wheat callus tolerant to high levels of salt and plant regeneration // Euphytica. — 1996. — 91, N 2. — P. 127—140.
43. *Barro F., Rooke L., Bekes F. et al.* Transformation of wheat with high molecular weight subunit genes results in improved functional properties // Nature Biotech. — 1997. — 15. — P. 1295—1299.
44. *Ben-Saad R., Ben-Ramdhan W., Zouari N.* Marker-free transgenic durum wheat cv. Karim expressing the AISAP gene exhibits a high level of tolerance to salinity and dehydration stresses // Mol. Breed. — 2012. — 30, N 1. — P. 521—533.
45. *Bieri S., Potrykus I., Fütterer J.* Expression of active barley seed ribosome-inactivating protein in transgenic wheat // Theor. Appl. Genet. — 2000. — 100. — P. 755—763.
46. *Bi R., Jia H., Feng D., Wang H.* Production and analysis of transgenic wheat (*Triticum aestivum* L.) with improved insect resistance by the introduction of cowpea trypsin inhibitor gene // Euphytica. — 2006. — 151. — P. 351—360.
47. *Bliffeld M., Mundy J., Potrykus I., Fütterer J.* Genetic engineering of wheat for increased resistance to powdery mildew disease // Theor. Appl. Genet. — 1999. — 98. — P. 1079—1086.
48. *Brinch-Pederson H., Oleson A., Rasmussen S., Holm P.* Generation of transgenic wheat (*Triticum aestivum* L.) for constitutive accumulation of an *Aspergillus* phytase // Mol. Breed. — 2000. — 6. — P. 195—206.
49. *Bruins M.B.M.* Fusarium Head Blight Resistance in Wheat. — Wageningen, 1998. — 131 p.
50. *Chen Q., Xie M., Ma X. et al.* MISSA is a highly efficient in vivo DNA assembly method for plant multiple-gene transformation // Plant Physiol. — 2010. — 153. — P. 41—50.
51. *Clausen M., Krauter R., Schachermayr G. et al.* Antifungal activity of a virally encoded gene in transgenic wheat // Nature Biotech. — 2000. — 18. — P. 446—449.
52. *Cong L., Wang C., Chen L. et al.* Expression of phytoene synthase1 and carotene desaturase crtI genes result in an increase in the total carotenoids content in transgenic elite wheat (*Triticum aestivum* L.) // J. Agr. Food Chem. — 2009. — 57. — P. 8652—8660.
53. *Crino P.* Culture filtrate as selective agent of resistance to phytopathogenic fungi // R.K. Upadhyay, K.G. Mukerji (eds), Toxins in Plant Disease Development and Evolving Biotechnology. — Enfield, New Hampshire (USA): Science Publishers, Inc., 1997. — P. 183—208.
54. *Cushman J.C., Bohnert H.J.* Genomic approaches to plant stress tolerance // Curr. Opin. Plant Biol. — 2000. — 3. — P. 117—124.

55. De Block M., Debrouwer D., Moens T. The development of a nuclear male sterility system in wheat. Expression of the barnase gene under the control of tapetum specific promoters // Theor. Appl. Genet. — 1997. — **95**. — P. 125–131.
56. Dorffling K., Dorffling H., Lesselich G. et al. Heritable improvement of frost tolerance in winter wheat by in vitro-selection of hydroxyproline-resistant proline overproducing mutants // Euphytica. — 1997. — **93**, N 1. — P. 1–10.
57. Fadel F., Wenzel G. In vitro selection for tolerance to fusarium in F1 microspore populations of wheat // Plant Pathol. — 1994. — **43**. — P. 644–650.
58. Galovic V. In vitro assessment of wheat tolerance to drought / V. Galovic, Z. Kotaranin, S. Dencic // Genetika. — 2005. — **37**, N 2. — P. 165–171.
59. He C., Zhang W., Gao Q. Enhancement of drought resistance and biomass by increasing the amount of glycine betaine in wheat seedling // Euphytica. — 2011. — **177**, N 2. — P. 151–167.
60. He G., Rooke L., Steele S. et al. Transformation of pasta wheat (*Triticum turgidum* L. var. durum) with high-molecular weight glutenin subunit genes and modification of dough functionality // Mol. Breed. — 1999. — **5**. — P. 377–386.
61. Hsissou D., Bouharmont J. In vitro selection and characterization of drought-tolerant plants of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) // Agronomie. — 1994. — N 2. — P. 65–70.
62. Javed F. In vitro salt tolerance in wheat I: Growth and ion accumulation // Int. J. Agr. Biol. — 2002. — **4**, N 4. — P. 458–461.
63. Koop H., Herz S., Golds T., Nickelson J. The genetic transformation of plastids // R. Bock (ed.) Cell and molecular biology of plastids. — Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 2007. — P. 457–510.
64. Leckband G., Lorz H. Transformation and expression of a stilbene synthase gene of *Vitis vinifera* L. in barley and wheat for increased fungal resistance // Theor. Appl. Genet. — 1998. — **96**. — P. 1004–1012.
65. Li Z., Mouille G., Kosar-Hashemi B. et al. The structure and expression of the wheat starch synthase III gene. Motifs in the expressed gene define the lineage of the starch synthase III gene family // Plant Physiol. — 2000. — **123**. — P. 613–624.
66. Lu W., Zhou M., Zhang X. Studies and improvement of wheat breeding for scab resistance using biotechnology // Wheat improvement for Scab resistance: Proc. Intern. Symp. 5–11 May 2000. — Sunghou and Nanjing, China, 2000. — P. 151–156.
67. Naqvi S., Farre G., Sanahuja G. et al. When more is better: multigene engineering in plants // Trends Plant Sci. — 2010. — **15**. — P. 48–56.
68. Patnaik D., Khurana P. Wheat biotechnology: A minireview plant biotechnology // Electronic J. Biotechnol. — 2001. — **4**. — P. 74–102.
69. Pauly M. H., Shane W. W., Gengenbach B.G. Selection for bacterial blight phytotoxin resistance in wheat tissue culture // Crop. Sci. — 1987. — **27**, N 2. — P. 340–344.
70. Peremarti A., Twyman R., Gomez-Galera S. et al. Promoter diversity in multigene transformation // Plant Mol Biol. — 2010. — **73**. — P. 363–378.
71. Ral J., Bowerman A., Li Z. Down-regulation of glucan, water-dikinase activity in wheat endosperm increases vegetative biomass and yield // Plant Biotechnol. J. — 2012. — **10**, N 7. — P. 871–882.
72. Ramana R., Parameswari C., Sripriya R., Veluthambi K. Transgene stacking and marker elimination in transgenic rice by sequential *Agrobacterium*-mediated co-transformation with the same selectable marker gene // Plant Cell Rep. — 2011. — **30**. — P. 1241–1252.
73. Rooke L., Bekes F., Fido R. et al. Overexpression of a gluten protein in transgenic wheat results in greatly increased dough strength // J. Cereal Sci. — 1990. — **30**. — P. 115–120.
74. Roudsari M., Salmanian A., Mousavi A. et al. Regeneration of glyphosate-tolerant *Nicotiana tabacum* after plastid transformation with a mutated variant of bacterial aroA gene // Iran. J. Biotechnol. — 2009. — N 7. — P. 247–253.
75. Shah D.M. Genetic engineering for fungal and bacterial diseases // Curr. Opin. Biotechnol. — 1997. — **8**. — P. 208–214.
76. Sharma H., Sharma K., Seetharama N., Ortiz R. Prospects for using transgenic resistance to insects in crop improvement // EJB Electronic J. Biotechnol. [online]. 15 August 2000, Available from: <http://www.ejb.org/content/vol3/issue2/full/3> ISSN 0717–3458.
77. Shawla H., Wenzel G. In vitro selection of barley and wheat for resistance against *Helminthosporium sativum* // Theor. Appl. Genet. — 1987. — **74**. — P. 841–845.
78. Sigurbjornsson E. Application of in vitro mutation techniques for crop improvement // Euphytica. — 1995. — **85**. — P. 303–315.
79. Sivamani E., Bahieldin A., Wraith J. et al. Improved biomass productivity and water use efficiency under water deficit conditions in transgenic wheat constitutively expressing the barley HVA1 gene // Plant Sci. — 2000. — **155**. — P. 1–9.

80. Stoger E., Vaquero C., Torres E. et al. Cereal crops as viable production and storage systems for pharmaceutical scFv antibodies // Plant Mol. Biol. — 2004. — **42**. — P. 583–590.
81. Taverniers I., Papazova N., Bertheau Y. et al. Gene stacking in transgenic plants: towards compliance between definitions, terminology, and detection within the EU regulatory framework // Environ. Biosafety Res. — 2008. — **7**. — P. 197–218.
82. Tishchenko O.M., Komisarenko A.G., Mykhalska S.I. et al. Agrobacterium-mediated transformation of sunflower (*Helianthus annuus* L.) in vitro and in planta using LBA4404 strain harboring binare vector pBi2E with dsRNA-suppressor of proline dehydrogenase gene // Cytol. and Genet. — 2014. — **48**, N 4. — P. 19–30.
83. Upadhyaya C., Nookaraju A., Gururani M. et al. An update on the progress towards the development of marker-free transgenic plants // Bot. Stud. — 2010. — **51**. — P. 277–292.
84. Vain P. Thirty years of plant transformation technology development // Plant Biotechnol. J. — 2007. — N 5. — P. 221–229.
85. Vasil I., Vasil V. Transgenic cereals: *Triticum aestivum* (wheat) // I.K. Vasil (ed.). Molecular Improvement of Cereal Crops. — Dordrecht (Netherlands): Kluwer Academic Publishers, 2000. — P. 137–147.
86. Vij S., Tyagi A. Emerging trends in the functional genomics of the abiotic stress response in crop plants // Plant Biotechnol. J. — 2007. — **3**. — P. 361–380.
87. Wang H., Yin W., Hu Z. Advances in chloroplast engineering // J. Genet. Genomics. — 2009. — **36**. — P. 387–398.
88. Wang W., Shang X., Yucel M., Nguyen H. Selection of cultured wheat cells for tolerance to high temperature stress // Crop. Sci. — 1993. — **33**. — P. 315–320.
89. Weinthal D., Tovkach A., Zeevi V., Tzfira T. Genome editing in plant cells by zinc finger nucleases // Trends Plant Sci. — 2010. — **15**. — P. 308–321.
90. Wright M., Dawson J., Dunder E. et al. Efficient biolistic transformation of maize (*Zea mays* L.) using the phosphomannose isomerase gene, *pmi*, as selectable marker // Plant Cell Rep. — 2001. — **20**. — P. 429–436.
91. Yang Z., Yang X., Huang D. Studies on somaclonal variants for resistance to scab in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) through in vitro selection for tolerance to deoxynivalenol // Euphytica. — 2006. — **101**, N 2. — P. 213–219.
92. Zair I., Chlyah A., Sabounji K. Salt tolerance improvement in some wheat cultivars after application of in vitro selection pressure // Plant Cell, Tissue Organ Cult. — 2003. — **73**, N 3. — P. 237–244.
93. Zemetra R., Schotzko D., Smith S., Lauver M. In vitro selection for Russian wheat aphid (*Diuraphis noxia*) resistance in wheat (*Triticum aestivum*) // Plant Cell Rep. — 1993. — **12**, N 6. — P. 312–315.

Отримано 28.03.2016

СОВРЕМЕННЫЕ БИОТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ УСТОЙЧИВЫХ К СТРЕССАМ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ

В.В. Моргун¹, О.В. Дубровная¹, Б.В. Моргун^{1,2}

¹Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины, Киев

²Институт клеточной биологии и генетической инженерии Национальной академии наук Украины, Киев

Проанализировано современное состояние развития клеточных и молекулярных биотехнологий растений, в частности пшеницы. Освещены достижения отечественных и зарубежных ученых в области клеточной селекции и генетической инженерии по получению устойчивых к биотическим и абиотическим стрессовым факторам среды растений пшеницы. Уделено внимание основным направлениям, методам отбора и оценки, возможностям, перспективам и проблемам современных биотехнологических исследований этой стратегической для Украины сельскохозяйственной культуры.

THE MODERN BIOTECHNOLOGIES OF PRODUCING WHEAT PLANTS RESISTANT TO STRESSES

V.V. Morgun¹, O.V. Dubrovna¹, B.V. Morgun^{1,2}

¹Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine
31/17 Vasylkivska St., Kyiv, 03022, Ukraine

²Institute of Cell Biology and Genetic Engineering, National Academy of Sciences of Ukraine
148 Akademika Zabolotnoho St., Kyiv, 03143, Ukraine

The current state of development of plant cellular and molecular biotechnologies, in particular for wheat has been analyzed. Achievements of Ukrainian and foreign scientists in the field of cell selection and genetic engineering to obtain wheat plants resistant to biotic and abiotic stress factors are illustrated. Attention paid to the main directions, methods of selection and assessment opportunities, prospects and challenges of modern biotechnology research for this strategic crop in Ukraine.

Key words: *Triticum* L., cell selection, genetic engineering, molecular markers, biotic and abiotic stresses.