

<https://doi.org/10.15407/frg2024.03.187>

УДК 577.152.3:633.11

РОЛЬ міРНК У РЕГУЛЯЦІЇ СТІЙКОСТІ ПШЕНИЦІ ДО АБІОТИЧНИХ СТРЕСІВ

О.В. ДУБРОВНА, С.І. МИХАЛЬСЬКА, А.Г. КОМІСАРЕНКО

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

Пшениця є стратегічною зерновою культурою у світі, яка відіграє провідну роль у харчовому забезпеченні людства. Незважаючи на загалом зростаючу тенденцію її виробництва, кліматичні зміни, що призводять до температурних перепадів, непередбачуваних опадів або посух, значно позначаються на її врожайності. Для попередження негативного впливу змін кліматичних умов на продуктивність цієї культури необхідна розробка інноваційних технологій покращення стійкості пшениці до абіотичних стресів. РНК-інтерференція (РНКі) є новим потенційним інструментом для селекції пшениці шляхом впровадження малих некодувальних послідовностей РНК із можливістю глушіння експресії генів специфічним для послідовності способом. Здатність до зниження експресії конкретного гена забезпечує можливість набуття нової характеристики елімінацією або накопиченням певних сполук в рослинах, що приводить до біохімічних або фенотипних змін, яких не мають вихідні рослини. У даному огляді літератури представлено сучасні уявлення про роль мікроРНК (міРНК), які є регуляторами експресії генів інгібуванням трансляції їх мРНК-мішеней через комплементарне зв'язування і розщеплення, у відповіді рослин пшениці на абіотичні стреси. Коротко представлено основні етапи механізму глушіння генів, опосередкованих міРНК. Детально описано особливості їхнього біогенезу, способи дії та розповсюдження. Розглянуто ідентифіковані міРНК пшениці, що реагують на абіотичні стреси, та їх передбачувані гени-мішені. Наводяться приклади диференційної експресії міРНК за стресової дії посухи, засолення і температурних чинників.

Ключові слова: *Triticum aestivum* L., пшениця, РНК-інтерференція, міРНК, стійкість до абіотичних стресів.

Пшениця (*Triticum aestivum* L., AABBDD, $2n = 42$) є стратегічною зерновою сільськогосподарською культурою у світі та відіграє провідну роль у харчовому забезпеченні людства [1]. Її зерно містить білки, вуглеводи, вітаміни, жири, мікроелементи, багато важливих мінералів і незамінних амінокислот, має відносно низький вміст жирних кислот, добре зберігається і відносно легко переробляється в харчові й кормові продукти, забезпечує понад 20 % загальної калорійності та білків раціону людини [2]. Нині це найпоширеніша злакова культура

Цитування: Дубровна О.В., Михальська С.І., Комісаренко А.Г. Роль міРНК у регуляції стійкості пшениці до абіотичних стресів. Фізіологія рослин і генетика. 2024. 56, № 3. С. 187–212. <https://doi.org/10.15407/frg2024.03.187>

з більш як 220 млн га посівів щорічно в багатьох географічних регіонах з широким діапазоном кліматичних умов. Залежно від агрокліматичних умов, щорічно виробляється понад 700 млн т зерна. Постійне зростання населення світу потребує збільшення як його кількості, так і якості. Незважаючи на досягнення в агротехнологіях та пов'язане з ними підвищення врожаїв, значна кількість зерна пшениці втрачається через несприятливі умови росту [3]. Зокрема, зміни клімату, які прискорилися в останні десятиліття, чинять прямий негативний вплив на врожайність і якість зерна цієї культури та є важливими гальмівними чинниками при її виробництві [4].

Абіотичні стреси призводять до порушень клітинного гомеостазу рослин пшениці, що негативно позначається на їх рості й розвитку [5]. Такі стресові чинники як посуха, екстремальні температури, засолення або дефіцит поживних речовин спричинюють великі втрати врожаю даної культури, що шкодить економіці та екології [6]. Останніми роками негативний вплив абіотичних стресорів на виробництво пшениці зростає із загрозливою швидкістю, і прогнозується подальше його погіршення через зміни клімату, деградацію земель та зменшення водопостачання [7]. Сучасні сорти пшениці мають обмежену толерантність до дії абіотичних стресових чинників, оскільки попередня селекція здебільшого була спрямована на підвищення врожайності та поліпшення якісних ознак культури. З огляду на це, наразі основними завданнями генетиків і селекціонерів є розробка стратегій для зменшення втрат урожаю, спричинених як біотичними, так і абіотичними стресовими чинниками.

Втрата продуктивності, пов'язана з абіотичними стресами, залежить від кількох внутрішніх і зовнішніх чинників, таких як сила і тривалість стресу, а також фази розвитку культури [8]. Водночас кожна рослина має пластичність, щоб адаптуватися до середовища, яка забезпечує здатність виживати в різноманітних екологічних умовах. Дослідження та визначення основних механізмів, які сприяють адаптації до стресових чинників довкілля, критично важливі для покращення продуктивності. Щоб зберегти життєздатність, культурні рослини задіюють багато різноманітних клітинних, біохімічних і молекулярних механізмів у відповідь на абіотичний стрес. Крім того, специфічний генотипний захист є добре відомим феноменом [5]. Основні молекулярні механізми цих реакцій охоплюють багато взаємодій на молекулярному і фізіолого-біохімічному рівнях і координуються сигнальними мережами [9]. Більшість біохімічних і фізіологічних змін, пов'язаних з відповіддю на абіотичний стрес, походять від диференціального накопичення кількох транскриптів і відповідних ним білків. Таким чином, регуляція експресії генів через транскрипційні й посттранскрипційні механізми є незамінною для обох процесів — розпізнавання стресу та відповіді на стрес [10]. Це передбачає розробку й застосування нових інноваційних технологій, зокрема РНК-інтерференції, які надають важливий інструмент з великим потенціалом для покращення стійкості пшениці до екологічних стресів, а також інших господарсько корисних ознак [11, 12].

РНК-інтерференція (РНКі) — біологічний механізм управління активністю генів за допомогою коротких дволанцюгових РНК та

синтезу спеціальних рибонуклеаз (РНКаз), що індукують селективну деградацію цільових РНК та/або інгібування їх трансляції чи реплікації [13]. РНКі включає регуляцію експресії генів кількома способами: ефективного посттранскрипційного мовчання генів (PTGS), інгібування трансляції, дестабілізації РНК та/або мовчання транскрипційних генів (TGS) спрямованим метилуванням [12]. Ключовими молекулами в РНКі є малі інтерферувальні РНК (кіРНК та міРНК), які можуть вступати у взаємодію із комплементарними послідовностями в інших молекулах РНК, наприклад у матричних РНК, і пригнічувати їхню активність.

Явище РНКі виявлене в клітинах більшості еукаріотів (людини, тварин, рослин, грибів, комах, нематод тощо) та бере участь у багатьох біологічних процесах — регуляції росту, розвитку, розмноженні, захисних реакціях організмів [14—17]. Механізм РНКі був підтверджений у 1998 р. американськими вченими Ендрю Файром і Крейгом Мелло з використанням в якості об'єкта дослідження нематої *Caenorhabditis elegans* [18]. За це відкриття у 2006 р. дослідники отримали Нобелівську премію з фізіології та медицини.

Індукція в рослинах РНКі внаслідок трансгенезу, яка включає специфічну для послідовності генну регуляцію за допомогою малих некодуєчих РНК, стала одним із найпотужніших підходів у поліпшенні сільськогосподарських культур, їх розвитку та захисту від різних патогенів і шкідників [13, 16, 19—22]. Вважають, що трансгенні рослини, створені на основі РНКі, практично й екологічно чистіші, оскільки не продукують жодних функціонально чужорідних білків і біоцидних речовин, а також не забруднюють довкілля [23—25]. Крім того, РНКі генерує нокдаун цільового гена замість нокауту, що робить її застосування вигіднішим порівняно з нещодавно розробленими інструментами редагування генома [26]. Технології РНКі можна використовувати для зниження експресії будь-яких генів, не порушуючи експресію інших генів. Ці унікальні особливості РНКі зробили її популярною та ефективною стратегією покращення і захисту сільськогосподарських рослин [23, 26].

Роль технології РНКі в поліпшенні пшениці було показано при покращенні якості зерна через його збагачення незамінними амінокислотами, антиоксидантами й іншими поживними речовинами, корисними для здоров'я людини, або внаслідок зменшення кількості алергенів чи антинутрієнтів [22, 27, 28], підвищення толерантності рослин до різних біотичних (віруси, бактерії, гриби, нематої, комахи) [12, 29—31] та абіотичних стресорів (посуха, засолення, екстремальні температури тощо) [3, 6, 32—35].

Нещодавно дослідники продемонстрували, що маніпуляція з регуляцією генів, яка опосередкована міРНК, може допомогти у створенні стійких до абіотичних стресів рослин пшениці [6]. У зв'язку з цим у даному огляді літератури представлено сучасні уявлення про роль міРНК у відповіді рослин на абіотичні стреси та наведені приклади диференціальної експресії міРНК за стресової дії посухи, засолення і температурних чинників.

Малі некодувальні регуляторні РНК. Малі некодувальні регуляторні РНК охоплюють два великі класи — короткі інтерферувальні

РНК (кіРНК) та мікроРНК (міРНК). Некодувальні кіРНК й міРНК розміром 20–25 пн є важливими біологічно активними молекулами, що беруть значну участь у створенні різноманітних генотипів і фенотипів [17]. Відмінність міРНК від кіРНК полягає в тому, що останні утворюються під час розрізання довгої молекули дволанцюгової РНК (длРНК), тоді як міРНК мають структуру шпильки, сформованої з одностанцюгової РНК під впливом рибонуклеаз класу РНКази III. Ця категорія РНК транскрибується з ДНК, але вони не здійснюють процес трансляції і не виробляють білки [36]. Вони спеціалізуються на виконанні важливих регуляторних функцій, пов'язаних із ростом і розвитком рослин і, головне, викликають відповіді на різні абіотичні та біотичні чинники стресу транскрипційно й посттранскрипційно [13, 37, 38].

міРНК рослин відкриті у 1993 р. [39]. Вони є ендogenous некодувальними молекулами, розміром 20–22 нуклеотиди, які діють як регулятори експресії генів на посттранскрипційному рівні та впливають на багато молекулярних і біохімічних процесів у рослинах [17]. Зокрема, вони координують різні аспекти програм онтогенезу, включно формування, виокремлення та розвиток вегетативних і генеративних органів, перехід до різних фаз вегетації, розмноження, а також регулюють адаптацію до умов середовища та відповіді рослин на біотичні й абіотичні стресори [40]. Їх попередником є довга одностанцюгова РНК, яка містить локальну шпилькову структуру; вони, на відміну від кіРНК, можуть бути не повністю комплементарними з послідовністю цільового гена. Механізм регуляції генів — тільки посттранскрипційний, а спосіб дії — репресія трансляції та деградація мРНК [17]. міРНК у рослин сортуються за білками родини AGO (AGO1, AGO10), здебільшого на основі розміру, а також ідентичності на рівні 5'-нуклеотидів [17]. міРНК були класифіковані на основі їх положення всередині генома та є «інтронними» або «міжгенними». Інтронні міРНК утворюються з інтронів, наявних у транскрипті хазяїна [41]. Міжгенні міРНК з'єднують два білок-кодувальних гена, транскрипція яких відбувається окремими незалежними одиницями за допомогою РНК-полімерази II (Pol II).

У рослин міРНК можна умовно розділити на дві групи: консервативні міРНК, які зустрічаються в різних родинях (таких міРНК небагато, для них характерний високий рівень експресії), і видоспецифічні міРНК (таких міРНК багато, для них характерний низький рівень експресії) [42]. Функціональний аналіз консервативних міРНК виявив їх участь у багатьох фізіолого-біохімічних процесах рослин. Вони регламентують різні аспекти програм розвитку включно з передаванням сигналів ауксину; формуванням меж меристеми та виокремлення органів; розвитком листків і їх полярністю; утворенням бічного кореня; переходом від ювенільної до дорослої вегетативної фази та до фази цвітіння; ідентичність органів квітки й плодів. Вони також регулюють експресію ключових факторів транскрипції, відповіді рослин на біотичні й абіотичні стресори та сам шлях утворення міРНК. Видоспецифічні міРНК становлять значну частку міРНК рослин і виконують певні функції у конкретного виду.

Вважається, що міРНК формують регуляторну мережу, за допомогою якої здійснюється просторове й тимчасове регулювання комплексу генів на різних стадіях розвитку. Здебільшого до мішеней міРНК належать гени, які кодують транскрипційні фактори, а також інші регуляторні білки, пов'язані з розвитком рослин [43]. У багатьох рослин було чітко відзначено, що експресія широкого спектра міРНК відбувається під час боротьби з різними стресовими чинниками. Дотепер накопичений великий експериментальний матеріал щодо їх можливої ролі у формуванні відповіді на вірусні й бактеріальні інфекції, передавання сигналів за нестачі або надлишку елементів мінерального живлення, регуляції генів антиоксидантної системи в умовах абіотичного стресу [6, 38, 44]. Результати досліджень показали, що індуковані стресом міРНК націлені на негативні регулятори відповідей на стрес або позитивні регулятори процесів, які гальмуються стресами, та демонструють специфічні для тканини або стадії розвитку моделі експресії [6]. В умовах стресу міРНК взаємодіють з транскрипційними факторами для регулювання сигналізації пов'язаних зі стресом гормонів, таких як ауксин, етилен, абсцизова й гіберелова кислоти [17].

Молекулярний механізм дії під час стресу відомий тільки для деяких міРНК, тоді як для інших описаний лише характер зміни рівня їхньої експресії. Насамперед можна виділити групу міРНК, експресія яких змінюється майже за всіх видів стресів (наприклад, miR160, miR167, miR393), а також групу стрес-специфічних міРНК, що відповідають лише на окремі види стресу (miR392, miR395 та ін.). Так, збільшення експресії miR393, miR160 і miR167 за дії посухи або сольового стресу було виявлено в більшості видів рослин, що супроводжувалося уповільненням темпів росту й розвитку рослини [45]. Як приклад міРНК, експресія якої змінюється різноспрямовано в різних видів, можна вказати miR169, що бере участь у відповіді на сольовий стрес і посуху [44].

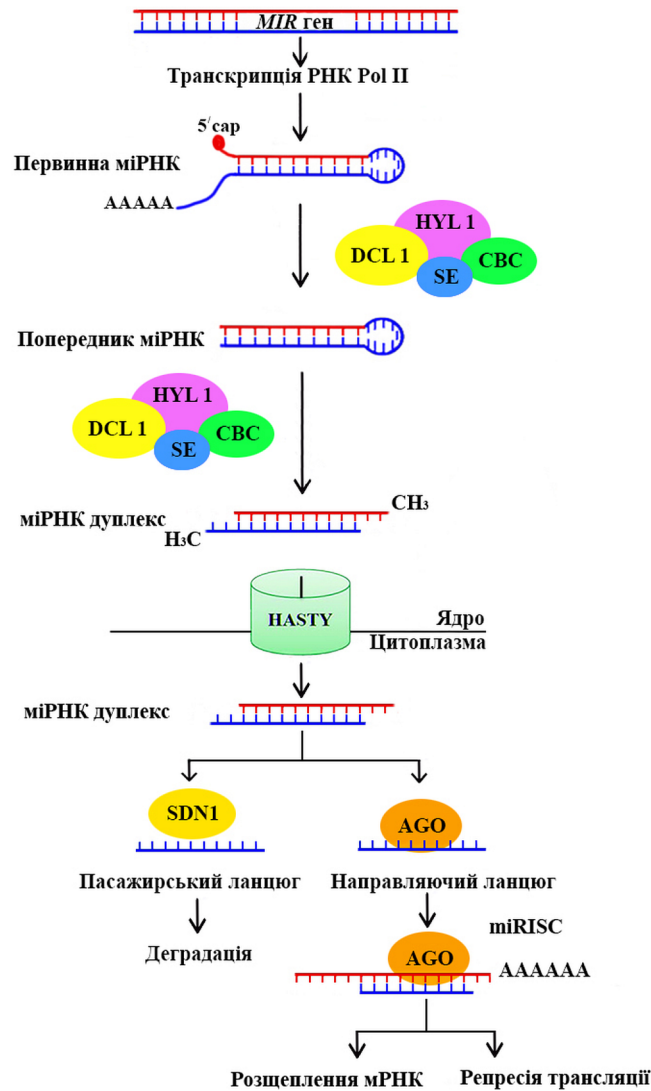
міРНК переміщуються локально від клітини до клітини на короткі відстані, здебільшого через плазмодесми, проте деякі міРНК поширюються на великі відстані через флоему [46]. Завдяки всебічним дослідженням було встановлено, що деякі міРНК (miR390, miR173 і miR845) мають потенціал для початку масового виробництва вторинних кіРНК, які називаються фазіРНК (phasiRNA) [47].

Стратегія застосування міРНК, яка виявилася ефективною для певного виду рослин, може не мати успіху для іншого виду. Це явище пояснюється різними типами регуляції еволюційно збережених міРНК у різних видів [17]. Також встановлено, що різні існуючі ізоформи однієї родини міРНК можуть відігравати активну роль у регулюванні різних фізіологічних функцій через ті самі або інші гени [6]. Слід зазначити, що можливості отримання нецільового ефекту значно менші з РНКі на основі міРНК порівняно з кіРНК, оскільки вони потребують меншої кількості нуклеотидів (одна послідовність 21/22 нуклеотиди) для ідентифікації цільової послідовності [17].

Механізм РНК-інтерференції, опосередкований міРНК. міРНК мають ендогенне походження, оскільки вони транскрибуються з *MIR* генів, які переважно розташовані в міжгенних областях, хоча кілька

міРНК походять від інтронної або екзонної послідовності генів, що кодуєть білки, а також можуть бути локалізовані в межах транспозонів [38]. Біогенез міРНК є багатоетапним процесом, який включає транскрипцію, процесинг, модифікацію та збирання РНК-індукованого комплексу глушіння (RNA-induced silencing complex, RISC) [40]. Більшість генів міРНК рослин транскрибуються РНК-полімеразою II (Pol II) з утворенням довгих первинних транскриптів, які мають частково дволанцюгові структури стебла (петлі) — при-міРНК (primary precursor miRNA) [17]. У рослин структура при-міРНК є відносно варіабельною щодо довжини, яка починається з 60 нуклеотидів, а може розтягнутися до 500. При-міРНК впізнаються та процесуються до прямого попередника міРНК (пре-міРНК) білком Dicer. На першому етапі дозрівання фермент Dicer-like 1 (DCL1) за участі дволанцюгового РНК-зв'язувального білка *Hyponastic leaves 1* (HYL1) і *Serrate* (SE), який є білком цинкового пальця, послідовно обробляє при-міРНК спочатку в пре-міРНК. Разом ці ферменти утворюють кубічний комплекс, що візуалізується як D-тільца в ядрі, який може активуватися під дією специфічних кіназ і дезактивується фосфатазами [25]. У результаті утворюється пре-міРНК, яка здатна складатися в характерну шпилькоподібну вторинну структуру, а її утворення відбувається в суб'ядерних D-тільцях. Фермент DCL1 далі обробляє пре-міРНК і утворює нестабільний міРНК/міРНК* дуплекс. За допомогою малої РНК-метилтрансферази *HUA Enhancer 1* (HEN1) дуплекс метилюється з 3'-кінця, після чого виходить у цитоплазму за допомогою експортиноподібного білка *Nasty* (HST1) [25]. У цитоплазмі один із ланцюгів дуплекса міРНК (напрямний) входить до складу комплексу RISC, тоді як інший ланцюг (пасажирський), що позначається як міРНК*, як правило, деградує. Вибір прямого ланцюга визначається ступенем стабільності кінців дуплекса: напрямним буде той ланцюг, 5'-кінець якого знаходиться в складі менш стабільної частини дуплекса. Зріла одностанцюгова міРНК активує каталітичну частину комплексу RISC — білок AGO1 (ARGONAUTE) та взаємодіє з комплементарною їй цільовою мРНК, що призводить до пригнічення трансляції або розривання цільової мРНК [25]. Узагальнена схема механізму РНКі, опосередкованого міРНК, представлена на рисунку.

Роль міРНК у відповідях рослин пшениці на абіотичні стреси. РНКі має великий потенціал щодо зміни експресії генів у пшениці для підвищення стійкості як до біотичних, так і абіотичних стресів. Такий підхід полегшує ідентифікація гена-мішені й розробка векторних конструкцій РНКі для трансформації. На сьогодні поширене застосування методу надекспресії міРНК поряд з процесом введення штучно синтезованої міРНК, націленої на ген, що цікавить. На відміну від конструкцій, які продукують кіРНК, конструкції міРНК утворюють одну малу РНК завдовжки 21 нуклеотид з чітко визначеною нуклеотидною послідовністю, що забезпечує надспецифічну деградацію цільового транскрипта в консервативному регіоні. Конструкції міРНК також менш «схильні» до ефекту неспецифічної деградації, що потенційно робить їх біологічно безпечнішими. Штучні синтетичні міРНК мають широку сферу застосування, оскільки можуть по-



Механізм глушіння генів у рослин, опосередкований міРНК

долати потенційні недоліки й обмеження, пов'язані з кіРНК, зважаючи на те, що вони викликають глушіння генів максимально точно [17].

Слід зазначити, що в пшениці повідомлялося про міРНК, пов'язані з реакціями на біотичні стреси, і їх роль у рослинах, інфікованих патогенними бактеріями, вірусами, нематодами та грибами [12, 28, 48–50]. Разом з тим регулювання експресії генів, що реагують на стрес, через активність міРНК вважається особливою перевагою за впливу абіотичних чинників. міРНК є критичними чинниками, які реагують на стрес і допомагають рослині протистояти несприятливим умовам навколишнього середовища, таким як посуха, засолення, екстремальні температури, токсичність металів тощо.

Ендогенні міРНК беруть активну участь у реакціях на абіотичний стрес, включно з осмопротекторною функцією, реакцією на аб-

сцизову кислоти, антиоксидантною та ауксиною передачею сигналів шляхом понижувальної регуляції цільових генів, задіяних у відповідь на абіотичний стрес [13]. Добре відомі міРНК-цільові модулі з факторами транскрипції miR156-SPL, miR159-MYB, miR160-ARF, miR164-NAC (NAM, ATAF, CUC), miR167-ARF, miR169-NFY, miR319-TCP, miR394-LCR, miR396-GRF і miR398-CSD, які відіграють важливу регуляторну роль у різних стресових середовищах для зменшення шкідливих наслідків [44]. У пшениці багато цільових транскриптів міРНК пов'язані зі стрес-чутливими родинами транскрипційних факторів (ТФ), включно WRKY і NAC [51].

У пшениці регуляція експресії генів встановлена за допомогою кількох фенотипних і фізіологічних аналізів після експресії міРНК, що реагують на стрес, та/або зміни їхніх цільових транскриптів [52]. На сьогодні проведено кілька досліджень для виявлення і характеристики асоційованих з абіотичним стресом міРНК даної культури як у експериментальних, так і обчислювальних роботах [32, 53–56]. Технологія секвенування малих РНК, а також застосування кількісної ПЛР у реальному часі найчастіше використовувалися експериментальними стратегіями завдяки їхнім можливостям ідентифікувати й кількісно оцінювати міРНК.

Цікаво, що деякі родини міРНК пшениці, наприклад miR159, miR167 і miR169, чутливі до кількох абіотичних стресів [57], тоді як інші міРНК, такі як miR1432 і miR1137, виявляли експресію, специфічну для певного виду стресу [32, 58, 59]. Зокрема, в пшениці показана диференціальна експресія міРНК за різних абіотичних стресів [32]. У генотипу С-306 дослідили профіль експресії консервативних міРНК, а саме: miR159, miR164, miR168, miR172, miR393, miR397, miR529 і miR1029 в адаптації до осмотичного, сольового та холодного стресів. Встановлено, що експресія miR168 та miR397 була зниженою, а miR172 — підвищеною за дії всіх стресорів. Однак miR164 і miR1029 були активовані за холодного і осмотичного стресу на відміну від сольового стресу, тоді як miR529 реагує лише на холод і не змінюється під впливом осмотичного та сольового стресу. miR393 показала посилену регуляцію за осмотичного та сольового впливу й знижену регуляцію за холодного стресу [32]. Ідентифіковані міРНК пшениці, які реагують на абіотичні стреси, та їх передбачувані гени-мішені представлені у таблиці.

Посухостійкість. Нестача вологи — несприятливий кліматичний чинник, дія якого все більше посилюється. Саме посуха є основним абіотичним стресовим чинником, який гальмує ріст і врожайність пшениці. Передбачається, що зміна кліматичних умов призведе до збільшення швидкості випаровування і зменшення кількості опадів у багатьох основних регіонах її вирощування; очікується, що ці умови призведуть до посилення жорсткості стресу від посухи [74]. Обмежена доступність води й висока швидкість випаровування негативно впливають як на вегетативний, так і на репродуктивний розвиток рослин через відповідні фізіологічні, молекулярні та біохімічні зміни. Стрес від посухи призводить до надмірного виробництва активних форм кисню (АФК), що негативно позначається на морфо-

РОЛЬ міРНК У РЕГУЛЯЦІЇ СТІЙКОСТІ ПШЕНИЦІ

Ідентифіковані міРНК пшениці, які реагують на абіотичні стреси

Ознака для поліпшення	Цільовий ген/транскрипційний фактор	міРНК	Літературне джерело
Посухоустійкість	SPL, SBP	miR156	[59, 60]
	MYB3	miR159a	[60]
	MYB, GAMYB1, GAMYB2, гени олігопептидного транспорту	miR159a-5p	[32, 61]
	білок, подібний до дигідрофлавоноїдредуктази	miR159c-5p	[59]
	ARF, HSP 70, TPR	miR160a	[55–59]
	NAC, фітосульфокіни, HSPs 17, гени що беруть участь у сигнальних шляхах MAPK	miR164	[32]
	NAC	miR164b	[59]
	HD-ZIP4	miR166h	[59]
	DnaJ (HSP40) n-кінцевий білоквмісний домен	miR167	[55]
	Argonaute	miR168	[32]
	ССААТ-box	miR169d	[59]
	Сенсорна гістидинкіназа	miR171f	[61]
	Apeta2-подібний ТФ, ARF, спіраль-петля-спіраль ДНК-зв'язувальний білок	miR172	[32]
	MYB3, Асуl-CoA синтетаза	miR319	[62]
	TIR1, bHLH	miR393	[32, 59]
	АТФ сірчані ліази та транспортери сірки	miR395	[63]
	GRF	miR396	[59]
	Ice1 (індуктор експресії ТФ CBF 1), лаккази	miR397	[32]
	COX, родина генів SOD	miR398	[51, 59]
	MADS-box	miR444c1	[59]
	IF3	miR444d3	[59]
	PPR, протеїнкіназа, кінезин, багатий на лейцин повтор	miR474	[51]
	AFH	miR628	[59]
	ТФ Apeta2-подібний, DREB	miR1029	[32]
	Мітохондріальний транспортер фосфату	miR1432	[59]
	6-PGDH	miR2111c	[64]
	EG	miR5054	[64]
PRM1, RPP13, PFT1	miR08, miR15	[64]	
Солестійкість	CBL7	miR59	[35]
	SPL3	miR156	[35]
	R2R3-MYB	miR159	[35]
	ARF8	miR160	[35]
	ARF	miR167	[65]
	NF-YA	miR169	[66]

Закінчення таблиці

Ознака для поліпшення	Цільовий ген/транскрипційний фактор	міРНК	Літературне джерело
Стійкість до високих та низьких температур	MYB, SCL6	miR171	[35, 67]
	PCF5	miR319	[35]
	АТФ-залежна РНК геліказа	miR399	[65]
	SnRK2	miR408	[33]
	HSP90	miR156	[68, 69]
	GAMYB1	miR159	[70]
	HSP70, ARF, TPR	miR160	[71]
	HSP17	miR164	[69]
	HSP, ARF, Dnaj (HSP40)	miR167	[69, 71, 72]
	NF-Y	miR169	[73]
	TCP, HSFA4a MYB3	miR319	[69, 71]
	HSP70, CSD1	miR398	[69, 71]

фізіологічних характеристиках посівів пшениці, зокрема висоті рослин, площі листків, відносному вмісті води, продишовій провідності, вмісті хлорофілу, осмотичній активності, водному потенціалі листків та у підсумку — на врожайності зерна [74–76]. Утворення АФК небезпечне, оскільки завдає значної шкоди клітинним органелам, таким як мітохондрії, нуклеїнові кислоти, ліпіди мембран, хлоропласти й метаболічні ферменти рослинних клітин [75]. Це спричинює дисбаланс у фізіологічних і біохімічних процесах, що призводить до загибелі клітин під час оксидного стресу, зумовленого дегідратацією [77]. Усі метаболічні та фізіологічні зміни, пов'язані з посухою, базуються на регуляції експресії генів на рівні транскрипції або трансляції, що зумовлює важливу роль у відповідь на посуху саме інтерференції РНК [78].

міРНК беруть участь у різних клітинних сигнальних шляхах, пов'язаних із посухою, зокрема передаванні сигналів ауксину, реакції АБК, антиоксидантному захисті, осмозахисті, рості клітин, диханні й фотосинтезі. Вони є важливими регуляторами посухостійкості в рослин, оскільки їхні гени-мішені відіграють ключову роль у метаболізмі й передаванні сигналу про посуху [79]. Транскрипти гена міРНК *MIR* зазнають просторового й тимчасового впливу чинників клітинної сигналізації, зокрема рослинних гормонів під час стресу [80]. Деякі консервативні міРНК, такі як miR159, miR164, miR172 і miR393, контролюють експресію ключових транскрипційних факторів, які регулюють розвиток і сигнальні шляхи [32]. Зокрема, кілька сигнальних генів (ARF, MYB33, MYB101, TIR1, AGO1) і чинників регуляції росту націлені та регулюються міРНК, що реагують на посуху [81].

Серед міРНК, ідентифікованих у пшениці, порівняно небагато реагує на посуху [78]. Мішені міРНК, що беруть участь у відповіді на посуху в даній культурі — це гени, продукти яких задіяні в різних клітинних процесах, пов'язаних з нестачею води, у тому числі в сиг-

нальних шляхах ауксину й абсцизової кислоти, рості клітин, фотосинтезі та диханні [82]. У відповідь на стрес експресія різних міРНК або підвищується, або знижується. Ті самі міРНК в умовах посухи можуть як експресуватися, так і пригнічуватися в одній і тій же рослині. Наприклад, у пшениці miR169 проявляє специфічну диференціальну експресію в умовах посухи [83].

Тип тканини є детермінантою моделі експресії міРНК у відповідь на стрес від посухи. Найчутливіші до посухи корені й листки рослин, оскільки вони безпосередньо беруть участь у підтриманні водного гомеостазу рослин. У різних типах тканин виявляють специфічні варіації експресії міРНК. Крім того, однакові родини міРНК можуть демонструвати різні моделі експресії у різних тканинах [6]. Наприклад, miR159 показала підвищену експресію в листках пшениці, тоді як її регуляція знижувалася в коренях [32, 59]. У дослідженні [84] порівняли міРНК, що реагують на посуху, у коренях та листках м'якої пшениці сорту Sivas 111/33 скринінгом мікрочіпів міРНК. Аналіз показав, що 285 міРНК (207 з підвищеною регуляцією та 78 з пониженою регуляцією) та 244 міРНК (115 з підвищеною регуляцією та 129 з пониженою регуляцією) диференційовано експресувалися в тканинах листків і коренів, відповідно. Серед диференційованих експресованих міРНК 23 були активні лише в листках, а 26 міРНК були експресовані лише в коренях рослин.

Більшість міРНК мають свої специфічні мішені, які беруть участь у регуляції специфічних генів/ТФ, задіяних у механізмах сигналізації/толерантності. У дослідженнях міРНК пшениці та їх мішеней останні були ідентифіковані як tae-miR159a,b (MYB3), tae-miR159c-5p (білок, подібний дигідрофлавоноїдредуктазі), tae-miR171f (сенсор гістидинкінази), tae-miR395i (АТФ-сульфурилаза), tae-miR156k (SBP), tae-miR166l-5p (білок родини FAM10), tae-miR168b (дегідрогеназа/редуктаза), tae-miR444c.1 (MADS-box), tae-miR1432 (мітохондріальний транспортер фосфату), tae-miR160a (ARF), tae-miR164b (NAC), tae-miR166h (HD-ZIP4), tae-miR169d (ССААТ-box), tae-miR319c (Acyl-CoA-синтетаза), tae-miR393b i (TIR1), tae-miR396a,c,g (GRF), tae-miR444d (IF3), tae-miR827-5p (пальцеподібний білок) [3, 59]. міРНК регулювали експресію їх цільових ТФ/генів, таким чином відіграючи ключову роль у механізмі стійкості до посухи.

Подібно до цього підвищена експресія miR156 у *T. dicoccoides* спрямована на ТФ SBP і сприяє цвітінню, тоді як miR398 діє на супероксиддисмутазу міді, цитохром-С-оксидазу й регулює утворення АФК під час водного стресу. Збільшений рівень експресії miR1432, яка націлена на білок, що зв'язує іони кальцію, активує шляхи передавання сигналу. Чутливими до посухи важливими міРНК у *T. aestivum* і *T. dicoccoides* є miR396, miR528, miR6248 [10], miR1435, miR5024 та miR7714 [9]. З іншого боку, miR166, яка спрямована на ТФ HD-ZIP3, показує знижену експресію в *T. dicoccoides* під час посухи та відіграє роль у розвитку, тоді як miR171, налаштована на ТФ GRAS, відіграє важливу роль у реакціях на абіотичний стрес [51]. Маніпуляції з цими міРНК і їх цільми можуть прокласти шлях до покращення продуктивності пшениці в умовах впливу абіотичних стресорів.

Щоб зрозуміти складні механізми, які регулюють посухостійкість пшениці, був проведений аналіз міРНК у дуже посухостійкого сорту — XF 20 [64]. Результати секвенування підтвердили експресію 199 раніше відомих міРНК, а також були ідентифіковані нові 32 міРНК. Аналіз генів-мішеней в умовах посухи показав, що диференціально експресовані міРНК знижували інгібування антиоксидантів завдяки збільшенню експресії антиоксидантних генів, тоді як для генів сигнальної трансдукції відбувалися протилежні процеси. Нові miR08 і miR15 були знижені в пшениці сорту XF 20 у відповідь на водний стрес. Їх мішенями можуть бути мРНК генів білків стійкості до хвороб, подібних до *PRM1* і *RPP13*. Прикметно, що miR15 також націлена на мРНК гена, який кодує цукрозосинтазу. У пшениці нещодавно досліджено, що експресія гена цукрозосинтази була значно вищою у посухостійкого сорту, ніж у чутливого до посухи [85]. Таким чином, рівень цукрози є вирішальним для відповіді пшениці на посуху й ці результати вказують на те, що механізм відповіді може включати регуляцію цукрозосинтази через miR15. Ця міРНК також націлена на фітохром і регуляторний білок часу цвітіння (*PFT1*, так званий Медіатор 25), який бере участь у реакції на посуху [86]. Встановлено, що цільовим геном miR2111c є 6-фосфоглюконатдегідрогеназа (6-PGDH), один з ключових ферментів окисного пентозофосфатного шляху. miR5054, експресія якої також була знижена у відповідь на посуху, налаштована на мРНК, яка кодує епоксидгідролазу (EG), що бере участь у метаболізмі ліпідів [64].

У роботі [59] ідентифікували 14 консервативних міРНК зі зниженою регуляцією та 6 з підвищеною у двох генотипів пшениці за дії зневоднення. Встановлено, що мішенню miR156 з підвищеною регуляцією є мРНК фактора транскрипції SBP (*squamosa promoter-binding-like protein*), який є важливим для росту й розвитку листків. Мішенню miR444c1 з підвищеною регуляцією є МІКС-тип гена фактора транскрипції MADS-box, який бере участь у регуляції процесів розвитку й реакції на стрес рослин. Виявлено, що miR398, цільовим геном якої є супероксиддисмутаза, надекспресована в чутливому до посухи сорті після дегідратації. Експресія miR628 пшениці була знижена лише у чутливого до посухи сорту, а її цільовим геном є альфа/бета складчаста гідролаза (AFH), яка бере участь у розкладанні продуктів пошкодження клітин. Експресія miR160a, miR164b, miR166h, miR169d і miR444d.3 знижена в посухостійкого сорту, але активована у чутливого до посухи. Цільовою для miR160a є родина генів ARF, які є ключовими факторами регуляції ауксинів [87]. Мішенню miR164b є родина факторів транскрипції NAC, які мають функції, пов'язані з різними абіотичними стресами [88]. Мішенню miR166h є ген HD-ZIP4 транскрипційного фактора HD-ZIP класу III. Активність miR169d була пригнічена в посухостійкого сорту після зневоднення й націлена на фактор транскрипції CCAAT-box, який є одним із найпоширеніших елементів в еукаріотичних промоторах. Виявлено, що експресія miR444d.3 була зниженою в посухостійкого сорту, а її мішенню є ген фактора ініціації 3 (IF3), який відіграє центральну роль у подовженні поліпептидного ланцюга еукаріот і може відігравати значну роль у стійкості пшениці до зневоднення. Автори

виявили, що 46 консервативних міРНК і 321 новий міРНК по-різному експресувалися у двох генотипах пшениці в умовах водного стресу. Цікаво, що 13 міРНК показали протилежні моделі експресії у двох генотипів пшениці — були знижені в посухостійких сортів, але посилені в чутливих до посухи сортів.

Індійські вчені [60] застосували комбінаторний підхід високопродуктивного секвенування з подальшим обчислювальним прогнозуванням міРНК та ідентифікували 47 відомих, 49 нових і 1030 потенційно нових міРНК у пшениці. Вони виявили, що рівень експресії miR156, miR160, miR166a, miR396d, miR1135, miR5139, taе_10, taе_15 і taе_44 вдвічі більший за дії стресу, спричиненого дефіцитом води. Цей аналіз показав, що принаймні три гени *SPL* пшениці, які виявляють гомологію з *SPL* 2, 11 і 16 рису, є потенційною мішенню miR156.

Солестійкість. Засолення ґрунту — одне з природних явищ, що виникає з низки причин і визначається багатьма чинниками, серед яких можна відзначити нерівномірність процесів водозабезпечення ґрунтів та випаровування води через різні властивості самого ґрунту. В даному разі температурні умови не відіграють істотної ролі. Натомість глобальні зміни клімату сприяють посиленню цієї проблеми, але натепер вона б не мала такого значення, якби не була пов'язана з виробництвом сільськогосподарських культур, у тому числі й пшениці, що забезпечують населення планети та сільськогосподарських тварин їжею [89].

Засолення через негативний вплив надмірної кількості іонів Na⁺ та Cl⁻ на метаболізм і фізіологію рослин пшениці є серйозним чинником, що гальмує її зростання та виробництво в багатьох регіонах світу [35]. Підвищена засоленість насамперед викликає іонний і осмотичний стрес, негативно впливає на клітини рослин, порушує найважливіші клітинні процеси та сприяє утворенню активних форм кисню (АФК). Якщо накопичена в ґрунті сіль потрапляє в рослину, то може спричинювати пошкодження клітинної плазматичної мембрани або органел [90]. Сольовий стрес може безпосередньо негативно впливати на такі важливі процеси, як проростання або фотосинтез [91]. З огляду на це, з'ясування молекулярних механізмів, пов'язаних з толерантністю до засолення, набуває все більшого значення. За останні десятиліття описано кілька генів, які реагують на сольовий стрес [92]. Вони впливають переважно на поглинання та транспортування солі, а також підтримують осмотичний баланс у клітинах [90].

Рослини виробили різні механізми протидії сольовому стресу, одним з яких є РНКі, яка може впливати на регуляцію генів за умов засолення [93]. Найчастіше формування адаптивної відповіді на засолення й посуху здійснюється за одним молекулярним механізмом або залучає ті самі транскрипційні фактори [82]. Модель експресії міРНК за сольового стресу може змінюватися залежно від тривалості стресу.

Багато родин міРНК показали індуковану експресію в пшениці у відповідь на сольовий стрес [32, 35, 67, 93]. Експресія miR156, miR186 і miR393 зазвичай підвищується під впливом сольового стресу [20]. Встановлено, що в пшениці miR171, яка націлена на родину

факторів транскрипції МУВ (мієлобластозподібні ДНК-зв'язувальні домени), активується засоленням [67]. Важливо, що дана міРНК також регулюється за дії сольового стресу в арабідопсису [94], що свідчить про загальні регуляторні механізми стійкості до засолення як в однодольних, так і дводольних культур. Оскільки і посуха, і засолення впливають на осмотичний баланс рослинних клітин, miR171 може відігравати роль у регуляції осмотичного балансу за таких стресових станів. Маніпуляції з miR171 в умовах стресу від посухи та засолення можуть забезпечити покращений осмотичний захист для представників родини Triticaceae. Подальша експериментальна характеристика цієї міРНК, а також інших чутливих до цього стресового фактора родин міРНК сприятимуть отриманню стійких до засолення сортів пшениці.

Гупта та співавт. [32] вперше повідомили, що в пшениці при засоленні активується miR855. miR169 пшениці має знижену регуляцію під впливом сольового стресу, підвищуючи експресію транскрипційного фактора NF- κ B (ядерний фактор κ субодиниці A) [66]. miR408 пшениці має вирішальне значення для адаптації рослин до сольового стресу [33]. Вона спрямована на шість генів, які кодують білки, що пов'язані з біохімічним метаболізмом, організацією мікротрубочок і сигнальною трансдукцією. Трансгенні лінії з надмірною експресією miR408 показали підвищений вміст осмолітів за умов сольового стресу в рослин дикого типу, тобто опосередкована miR408 стійкість до засолення асоціюється з сигнальними шляхами АБК.

Виявлено, що експресія міРНК пшениці в умовах сольового стресу залежить від жорсткості стресового чинника [60]. При засоленні значне зниження (більш як 3-разова зміна) експресії спостерігалось для tae_15, tae_19 і tae_45. Цікаво, що експресія miR164, яка залишалась незмінною у відповідь на 150 мМ розчину NaCl, показала зниження більш як у чотири рази при застосуванні 250 мМ NaCl. За аналогічних умов відбувалась контрастна відповідь miR5139, рівень експресії якої збільшувався в 1,8 рази за 150 мМ NaCl і знижувався в 1,45 рази при застосуванні вищої концентрації (250 мМ NaCl). міРНК (tae_6, tae_15, tae_19, tae_27 і tae_45) продемонстрували зниження експресії, причому tae_45 показала максимальне (більш як удвічі) зниження, а рівні експресії tae_10 і tae_22 істотно зросли у відповідь на 150 мМ сольовий стрес. Експресія tae_7 і tae_44 (які залишалися незмінними при застосуванні 150 мМ NaCl) зменшувалася за впливу 250 мМ NaCl.

Щоб дослідити профілі міРНК коренів сортів пшениці Безоста (чутливий) і Segi-82 (толерантний) в умовах засолення був використаний аналіз міРНК-мікроматриці [95]. Загалом були ідентифіковані 44 диференційно регульовані міРНК, а 16 нових міРНК, що реагують на засолення, були вперше визначені в пшениці. Експресія 3 міРНК (hvu-miR5049a, rpt-miR1074 і osa-miR444b.2) була підвищена більш як у 260 разів у сорту Безоста за сольового стресу. Аналіз цільових генів показав, що міРНК, які реагують на сольовий стрес, регулюють переважно фактори транскрипції, такі як bHLH135-подібний, AP2/ERBP, MADS-box і транспортери.

Китайські вчені [35] провели загальногеномне дослідження з використанням високопродуктивного секвенатора Illumina та комплексний аналіз *in silico*, щоб отримати уявлення про основні механізми, за допомогою яких міРНК забезпечують стійкість до засолення в коренях двох контрастних сортів пшениці, а саме Suntop (солестійкий) і Sunmate (чутливий до солі). Всього в обох сортах було ідентифіковано 191 міРНК, що склалися зі 110 відомих міРНК і 81 нової міРНК; 181 міРНК була спільною для двох сортів. Відомі міРНК належали до 35 родин, які утворені з 23 консервативних та 12 унікальних родин. Засолення викликало у сортів Suntop і Sunmate індукцію 43 і 75 міРНК, відповідно. Серед них 14 відомих і 29 нових міРНК були експресовані в сорті Suntop та 37 відомих і 38 нових — в сорті Sunmate. Крім того, сім міРНК, включно з *tae-miR156*, *tae-miR160*, *tae-miR171a-b*, *tae-miR319*, *tae-miR159a-b*, *tae-miR9657* і *mir59*, цільовими генами яких є *SPL*, *SCL6*, *PCF5*, *R2R3 MYB* і *CBL-CIPK*, відповідно, сприяли підвищенню стійкості до засолення сорту Suntop.

Виявлено, що під впливом засолення толерантний сорт Suntop знижував експресію *miR156*, яка негативно регулювала цільовий ген *SPL3*. *miR160*, націлена на ауксинреагуювальний фактор 8-подібний білок (*ARF8*), була знижена в сорті Suntop та підвищена в сорті Sunmate, що пов'язано з негативною регуляцією *ARF8*. *miR171a* і *miR171b*, націлені на фактор транскрипції *SCL6*, були пригнічені в сорті Suntop, але активовані в сорті Sunmate. У цьому дослідженні показано, що цільовий ген *miR319* — *PCF5* може підвищити стійкість до засолення сорту Suntop.

Регуляція *miR159a-b* і *miR9657* була пригнічена в сорті Suntop, що підвищило експресію їх цільових генів, які кодують пов'язані з *MYB* фактори транскрипції. Це свідчить про те, що транскрипційні фактори, пов'язані з *MYB*, відіграють певну роль у стійкості до сольового стресу. Експресія нової *miR59*, спрямована на два гени *TraesCS6B01G465600.1* і *TraesCS6B01G465600.2*, що кодують серин/треонінпротеїнкіназу 7, яка взаємодіє з *CBL*, не змінилася в сорті Suntop, але посилилася в Sunmate. Комплекс *TaCBL3—TaCIPK29* регулює антиоксидантну систему, а гени-транспортери захищають пшеницю від сольового стресу [96]. Отже, *miR59* та її потенційні мішені (*CBL*-взаємодіюча серин/треонінпротеїнкіназа 7) також відіграють позитивну роль у солетолерантності сорту Suntop.

Стійкість до температурного стресу. Температура є важливим параметром середовища, який впливає на ріст і продуктивність рослин. Ріст рослин пшениці за неоптимальних температурних умов призводить до зниження якості й кількості зерна та значних економічних втрат [97]. Наслідки температурного стресу залежать від кількох чинників, таких як період впливу стресу й стадія розвитку рослини; наприклад, рослини чутливіші до високих і низьких температур на репродуктивній стадії [98]. Екстремальні температури впливають на життєздатність пилку та яйцеклітини й процес запліднення. На додаток до репродуктивних пошкоджень, неоптимальні температурні умови можуть спричинити зміни в доступності ґрунтової води та вмісті мінералів, що опосередковано впливає на фізіологію рослини

[99]. Останніми роками, внаслідок глобального потепління, рослини 40 % територій помірного клімату Землі зазнають впливу підвищених стресових температур. Прогнозується, що дія таких кліматичних умов упродовж XXI століття може призвести до втрати понад 10 % врожаю [100].

Тепловий стрес спричинює зміни у важливих клітинних процесах, таких як дихання і фотосинтез, поряд зі структурними пошкодженнями, включно з порушенням цілісності мембрани. Вживання рослин в умовах теплового стресу безпосередньо пов'язане зі здатністю відчувати зміну температури й генерувати відповідні сигнали для підтримання життєздатності клітини через молекулярні та фізіологічні зміни. За умов температурного стресу збільшується синтез білків теплового шоку, шаперонів, фітогормонів, а також вторинних метаболітів [101]. Індукована температурою експресія генів, трансляція білків і синтез метаболітів чинять прямий вплив на ступінь термотолерантності. Отже, регуляція асоційованого з температурою транскрипту відіграє важливу роль у реакції на температурний стрес.

Білки теплового шоку допомагають підтримувати цілісність клітин внаслідок зменшення активності окисного стресу шляхом поглинання АФК, синтезу антиоксидантів і покращення згортання білка [102]. Пригнічена експресія miR160 і miR164, імовірно, спричинює індукцію експресії білків теплового шоку та підтримує життєздатність за високих температур. І, навпаки, посилена експресія тих самих міРНК за дії холодого стресу свідчить про зміну регуляторної ролі білків теплового шоку під дією холоду.

Тепловий і холододовий стреси зумовлюють чіткі та незалежні модифікації клітинних процесів. міРНК беруть безпосередню участь в адаптації до теплового і холодого стресів як посттранскрипційні регулятори експресії генів [6, 32, 53, 68–70, 72, 103, 104]. Вважається, що міРНК, пов'язані з температурним стресом, задіяні в регуляції загальних генів, що реагують на стрес, наприклад miR398, яка глушить гени супероксиддисмутази CSD1, CSD2 та мідний шаперон CSD, а також бере участь у зниженні накопичення активних форм кисню (АФК) [38].

Деякі міРНК, що реагують на тепловий та холододовий стреси, були ідентифіковані й експериментально охарактеризовані за певних умов стресу в різних тканинах пшениці [32, 53, 70]. Виявлено змінну експресію miR159, miR164, miR167, miR172, miR319 і miR398 у відповідь як на тепловий, так і на холододовий стреси [32, 67]. Цікаво, що кілька міРНК показали зворотні моделі експресії як за теплового, так і холодого стресу. Наприклад, у пшениці miR164, націлена на білок теплового шоку 17 (HSP17), активується під впливом холодого стресу, але знижується у відповідь на тепловий стрес [32, 69]. Експресія ще одної міРНК пшениці, miR319, націленої на фактор транскрипції MYB, також активується за холодого стресу, проте знижується за теплового.

Кілька міРНК, які виявляються як за теплового, так і за холодого стресу в різних тканинах, показують подібні моделі експресії. Наприклад, miR167, яка націлена на ауксинреагуювальний фактор

(ARF), та miR169, яка націлена на ядерний транскрипційний фактор Y (NF-Y), посилено регулюються в пшениці як за теплового, так і за холодного стресів [32, 69]. Ці спостереження підтверджують думку, що механізми регулювання термотолерантності можуть змінюватись під впливом теплового або холодного стресів, але основні механізми можуть бути подібними. Використання таких міРНК і їх мішеней може покращити загальну стійкість пшениці до температурного стресу.

Багато міРНК беруть участь у відповіді на тепловий стрес у рослин пшениці, зокрема miR156, miR159, miR172, miR396 [32, 70]. Диференційна експресія міРНК була виявлена в пшениці у відповідь на тепловий стрес [68]. Серед 32 родин міРНК, дев'ять консервативних міРНК були чутливими до тепла. Експресія miR172 була значно знижена, а miR156, miR159, miR160, miR166, miR168, miR169, miR393 і miR827 були активовані під впливом теплового стресу. Індійські дослідники описали тканино-специфічний патерн експресії багатьох міРНК за теплового стресу, де miR3466, miR5652 і miR5064 показали різну експресію в тканинах кореня, стебла та листків пшениці [69, 105]. Було виявлено, що активність miR5652 дуже залежить від сорту, оскільки її експресія мала істотні відмінності між термочутливим і толерантним сортом пшениці. Подальші дослідження конкретних цілей та зв'язків з ними міРНК мають покращити наше розуміння тканинної основи регулювання транскрипції за температурного стресу.

Індійські вчені ідентифікували кілька міРНК, що реагують на тепло в пшениці, з використанням секвенатора Illumina HiSeq 2000 [71]. Валідація ідентифікованих міРНК у тканинах ендосперму термотолерантного (HD2985) і термочутливого (NIAW) сортів пшениці за допомогою ПЛР у реальному часі виявила активацію 4 міРНК (miR156, miR167, miR395b і miR398) та зниження регуляції 6 міРНК (miR159a, miR159b, miR160, miR171a, miR319 і miR1117) у відповідь на тепловий стрес. Аналіз ідентифікованих міРНК показав, що їх цільовими генами є *HSF3*, *HSFA4a*, *HSP17*, *HSP70* і супероксиддисмутаза (СОД). У сортах пшениці HD2985 і NIAW порівняно з контролем експресія ідентифікованих цільових генів за теплового стресу (42 °C, 2 години) збільшилась у 2,34 і 1,33 рази (*HSF3*); 2,45 і 1,44 рази (*HSFA4a*); 3,9 і 1,9 рази (*HSP17*); 5,6 і 2,4 рази (*HSP70*); 1,9 і 1,2 рази (СОД); 2,7 і 1,6 рази (каталаза). В подальшому, Кумар та ін. [69] виявили 53 і 46 зрілих міРНК у контрольних й оброблених тепловим стресом (42 °C, 2 год) зразках пшениці сорту HD2985, серед яких були ідентифіковані 37 нових міРНК. Шість нових міРНК були підтверджені як чутливі до тепла.

В іншому дослідженні [73] були ідентифіковані регульовані тепловим стресом міРНК пшениці й підтверджені їх цільові гени, пов'язані з термотолерантністю. Були проаналізовані тканини листків, зібраних з контрольних та підданих тепловому стресу рослин пшениці сорту Chinese Spring через 1 і 4 дні після стресового періоду. Вони ідентифікували 202 зрілі міРНК, з яких 36 були диференційно змінені з часом у реакції на тепловий стрес. Секвенування PARE підтвердило цільові мішені сімейства miR156, miR159, miR166, miR393 і

miR398 як подібні до *squamosa*-промотор зв'язувального білка (SPL), фактора транскрипції MYB, гомеобоксного білка лейцин-блискавки й білків, що реагують на транспортні інгібітори та супероксиддисмутазу, відповідно. Показано, що miR528, специфічна для однодольних, істотно активувалася для регулювання антиоксидантної активності після теплового стресу.

Знижена регуляція miR159a, ген-мішень якої кодує фактор транскрипції MYB3, відіграє важливу роль у відповіді на холододовий стрес у пшениці [59]. Виявлено, що miR394, miR397, miR319, miR396, miR408, miR402 пов'язані з відповіддю на холододовий стрес через СВF-залежний шлях і накопичення АФК. Модуль miR394-LCR також бере участь у відповіді на холододовий стрес у рослин пшениці [106].

Китайські дослідники [53] провели глибоке секвенування малих РНК, отриманих із тканин колоса чоловічостерильної лінії пшениці TGMS за холододового стресу й у контрольних умовах, та ідентифікували загалом 78 унікальних послідовностей міРНК із 30 сімейств і трансактивні малі інтерферуючі РНК (tasiRNA), отримані з двох генів TAS3. Вони визначили шість міРНК і одну tasiРНК (tasiRNA-ARF) як міРНК, що реагують на холододовий стрес, у тканинах колоса лінії TGMS. Ці дані показали, що miR167 і tasiRNA-ARF відіграють значну роль у регуляції сигнального шляху ауксину і, можливо, в реакціях на холододовий стрес.

Огляд сучасної літератури свідчить, що сьогодні проводиться ґрунтовна робота щодо вирішення проблем, спричинених дією стресових чинників навколишнього середовища, які істотно обмежують урожайність пшениці. За останні два десятиліття було досягнуто значного прогресу в ідентифікації генів, які реагують на стрес, і пов'язаних з ними білків. Модифікація експресії цих генів продемонструвала багатообіцяльні результати для підвищення стресостійкості пшениці. Була показана чітка роль міРНК у регуляції стресостійкості й надані переконливі докази того, що існують варіації рівня та часу експресії міРНК, що дає можливість відбору за конкретними алелями. Однак, незважаючи на досягнутий прогрес, багато питань щодо функції та використання міРНК у покращенні стресостійкості пшениці потребує уточнення. Дослідження, спрямовані на використання міРНК для покращення толерантності до абіотичних стресів, зосередилися на ідентифікації диференціально експресованих сімейств міРНК. Завдяки цьому було створено кілька комплексних баз даних міРНК. Однак цільові гени-мішені для багатьох з цих міРНК поки не встановлені. Крім того, схема регуляції для багатьох з цих диференціально експресованих міРНК охарактеризована недостатньо. Оскільки регулювання експресії генів на основі міРНК ґрунтується на трансляційному інгібуванні мішеней мРНК, повна характеристика мішеней міРНК забезпечить шлях до цілеспрямованого регулювання метаболізму рослин. З огляду на це, дослідження необхідно зосередити на зв'язку між міРНК та їх цільовою мРНК. У пшениці лише кілька важливих зв'язків міРНК/мішень мРНК були добре охарактеризовані. Однак сигнальні каскади, які передають асоційований

зі стресом сигнал до синтезу міРНК і регулюють диференціальні моделі експресії, переважно невідомі. Глибоке та всебічне розуміння цих сигнальних каскадів може відкрити нові шляхи для маніпулювання регуляцією відповіді на абіотичний стрес на основі міРНК. Зв'язок між асоційованими зі стресом шляхами та міРНК, що реагують на стрес, необхідно з'ясувати разом з їх фізіологічним і біохімічним впливом на метаболізм клітин і розвиток рослин.

На сьогодні докладено небагато зусиль для ідентифікації міРНК, асоційованих з абіотичним стресом у диких родичів пшениці, хоча ці види є цінними джерелами варіацій для структурних генів [54, 55, 107]. Нові технології секвенування та стратегії селекції передбачають значне покращення як у відкритті, так і у використанні варіацій послідовностей міРНК і моделюванні експресії з неадаптованих ліній. Однак інтрогресія нової варіації від родичів пшениці залишається складним завданням. Ці труднощі можна подолати за допомогою нових технологій редагування генів, оскільки такі методи дозволяють індукувати невеликі зміни в послідовності та характері експресії конкретної міРНК. Докладне знання послідовностей міРНК і їх експресії у видів родини *Triticeae*, які пристосувалися до несприятливих середовищ, має надавати цілі для редагування кодувальних послідовностей міРНК у пшениці. Хоча міРНК мають великий потенціал для покращення продуктивності, інші типи малих РНК також можуть бути використані для покращення стійкості пшениці до абіотичних стресів. З'ясування взаємодії міРНК з іншими типами некодуючих РНК може обґрунтувати нові підходи щодо покращення толерантності до екологічних стресів. Однак дослідження цих механізмів й процесів ще знаходяться на початковому етапі.

Отже, стратегії поліпшення пшениці, засновані на малих некодуючих РНК, мають значний потенціал для збільшення її продуктивності шляхом підвищення толерантності до стресових чинників довкілля. Розуміння РНК-керованих мереж регуляції стресу може дати нові ідеї генетичного поліпшення стійкості рослин до стресових чинників. Багато досліджень виявили складність і збіг у реакціях рослин пшениці на різні стреси, а також їх комплексність, що, ймовірно, приведе до розробки нових способів підвищення стійкості пшениці до екологічних стресів.

REFERENCES

1. Shewry, P.R. (2009). Wheat. *J. Exp. Bot.*, 60, No. 6, pp. 1537-1553. <https://doi.org/10.1093/jxb/erp058>
2. Shiferaw, B., Smale, M., Braun, H., Duveiller, E., Reynolds, M. & Muricho, G. (2013). Crops that feed the world 10. Past successes and future challenges to the role played by wheat in global food security. *Food Sec.*, 5, No. 3, pp. 291-317. <https://doi.org/10.1007/s12571-013-0263-y>
3. Budak, H., Hussain, B., Khan, Z., Ozturk, N.Z. & Ullah, N. (2015a). From genetics to functional genomics: improvement in drought signaling and tolerance in wheat. *Front Plant Sci.*, 6, 1012. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01012>
4. Nowsherwan, I., Shabbir, G., Malik, S.I. & Ilyas, M. (2018). Effect of drought stress on different physiological traits in bread wheat. *J. Agricult.*, 16, No. 1, pp. 1-6. <https://doi.org/10.3329/sja.v16i1.37418>

5. Mickelbart, M.V., Hasegawa, P.M. & Bailey-Serres J. (2015). Genetic mechanisms of abiotic stress tolerance that translate to crop yield stability. *Nat. Rev. Genet.*, 16, pp. 237-251. <https://doi.org/10.1038/nrg3901>
6. Alptekin, B., Langridge, P. & Budak, H. (2017). Abiotic stress miRNomes in the Triticeae. *Funct. Int. Genom.*, 17, pp. 145-170. <https://doi.org/10.1007/s10142-016-0525-9>
7. Kapoor, D., Bhardwaj, S., Landi, M., Sharma, A., Ramakrishnan, M. & Sharma, A. (2020). The impact of drought in plant metabolism: how to exploit tolerance mechanisms to increase crop production. *Appl. Sci.*, 10, No. 16, 5692. <https://doi.org/10.3390/app10165692>
8. Zhang, B. (2015). MicroRNA: a new target for improving plant tolerance to abiotic stress. *J. Exp. Bot.*, 66, pp. 1749-1761. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv013>
9. Akpinar, B.A., Avsar, B., Lucas, S.J. & Budak, H. (2012). Plant abiotic stress signaling. *Plant Sign. Behav.*, 7, No. 11, pp. 1450-1455. <https://doi.org/10.4161/psb.21894>
10. Budak, H., Kantar, M., Bulut, R. & Akpinar, B.A. (2015b). Stress responsive miRNAs and isomiRs in cereals. *Plant Sci.*, 235, pp. 1-13. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2015.02.008>
11. Fletcher, S.J., Reeves, P.T., Hoang, B.T. & Mitter, N.A. (2020). Perspective on RNAi-based biopesticides. *Front. Plant Sci.*, 11, e00051. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00051>
12. Liu, S., Geng, S., Li, A., Mao, Y. & Mao, L. (2021). RNAi technology for plant protection and its application in wheat. *aBIOTECH*, 2, pp. 365-374. <https://doi.org/10.1007/s42994-021-00036-3>
13. Bharathi, J., Anandan, R., Benjamin, L., Muneer, S. & Prakash, M. (2023). Recent trends and advances of RNA interference (RNAi) to improve agricultural crops and enhance their resilience to biotic and abiotic stresses. *Plant Physiol. Biochem. J.*, 194, pp. 600-618. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2022.11.035>
14. Kumar, K., Gambhir, G., Dass, A., Tripathi, A.K., Singh, A., Jha, A.K., Yadava, P., Choudhary, M. & Rakshit, S. (2020). Genetically modified crops: current status and future prospects. *Planta*, 251, No. 4, 91. <https://doi.org/10.1007/s00425-020-03372-8>
15. Hernández-Soto, A. & Chacón-Cerdas, R. (2021). RNAi crop protection advances. *Int. J. Mol. Sci.*, 22, No. 22, 12148. <https://doi.org/10.3390/ijms222212148>
16. Bilir, Ö., Göl, D., Hong, Y., McDowell, J.M. & Tör, M. (2022). Small RNA-based plant protection against diseases. *Front. Plant Sci.*, 13, 951097. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.951097>
17. Halder, K., Chaudhuri, A., Abidin, M.Z. & Datta, A. (2023). Tweaking the small non-coding RNAs to improve desirable traits in plant. *Int. J. Mol. Sci.*, 24, 3143. <https://doi.org/10.3390/ijms24043143>
18. Fire, A., Xu, S., Montgomery, M.K., Kostas, S.A., Driver, S.E. & Mello, C.C. (1998). Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nat. J.*, 391, No. 6669, pp. 806-811. <https://doi.org/10.1038/35888>
19. Qi, T., Guo, J., Liu, P., He, F., Wan, C., Islam, M., Tyler, B.M., Kang, Z. & Guo, J. (2019a). Stripe rust effector PstGSRE1 disrupts nuclear localization of ROS-promoting transcription factor TaLOL2 to defeat ROS-induced defense in wheat. *Mol. Plant*, 12, No. 12, pp. 1624-1638. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2019.09.010>
20. Abdellatif, E., Kamal, N.M. & Tsujimoto, H. (2021). Tuning beforehand: a foresight on RNA interference (RNAi) and in vitro-derived dsRNAs to enhance crop resilience to biotic and abiotic stresses. *Int. J. Mol. Sci.*, 22, No. 14, 7687. <https://doi.org/10.3390/ijms22147687>
21. Akbar, S., Wei, Y. & Zhang, M.-Q. (2022). RNA interference: promising approach to combat plant viruses. *Int. J. Mol. Sci.*, 23, No. 10, 5312. <https://doi.org/10.3390/ijms23105312>
22. Dubrovna, O.V., Mykhalska, S.I. & Komisarenko, A.G. (2023). Use of RNA interference technology for improving economically valuable traits of cereal crops. *Cytol. Genet.*, 57, No. 6, pp. 587-610. <https://doi.org/10.3103/s0095452723060026>
23. Rajam, M.V. (2020). RNA silencing technology: A boon for crop improvement. *J. Biosci.*, 45, No. 1, pp. 1-5. <https://doi.org/10.1007/s12038-020-00082-x>
24. Rodrigues, T.B. & Petrick, J.S. (2020). Safety considerations for humans and other vertebrates regarding agricultural uses of externally applied RNA molecules. *Front. Plant Sci.*, 11, 407. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00407>

25. Kaur, R., Choudhury, A., Chauhan, S., Ghosh, A., Tiwari, R. & Rajam, M. (2021). RNA interference and crop protection against biotic stresses. *Physiol. Mol. Biol. Plants*, 27, No. 10, pp. 2357-2377. <https://doi.org/10.1007/s12298-021-01064-5>
26. Mezzetti, B., Smagghe, G., Arpaia, S. & Christiaens, O. (2020). RNAi: what is its position in agriculture? *J. Pest. Sci.*, 93, No. 4, pp. 1125-1130. <https://doi.org/10.1007/s10340-020-01238-2>
27. Barro, F., Iehisa, J.C., Giménez, M.J., García-Molina, M.D., Ozuna, C.V., Comino, I., Sousa, C. & Gil-Humanes, 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>
28. Gasparis, S., Kała, M., Przyborowski, M., Orczyk, W. & Nadolska-Orczyk, A. (2017). Artificial microRNA-based specific gene silencing of grain hardness genes in polyploid cereals appeared to be not stable over transgenic plant generations. *Front. Plant Sci.*, 9, No. 7, 02017. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.02017>
29. Qi, T., Guo, J., Peng, H., Liu, P., Kang, Z. & Guo, J. (2019). Host-induced gene silencing: a powerful strategy to control diseases of wheat and barley. *Int. J. Mol. Sci.*, 20, No. 1, 206. <https://doi.org/10.3390/ijms20010206>
30. Wang, M., Wu, L., Mei, Y., Zhao, Y., Ma, Z., Zhang, X. & Chen, Y. (2020). Host-induced gene silencing of multiple genes of *Fusarium graminearum* enhances resistance to *Fusarium* head blight in wheat. *Plant Biotechnol. J.*, 18, No. 12, pp. 2373-2375. <https://doi.org/10.1111/pbi.13401>
31. Dutta, T.K., Papolu, P.R., Singh, D., Sreevathsa, R. & Rao, U. (2020). Expression interference of a number of *Heterodera avenae* conserved genes perturbs nematode parasitic success in *Triticum aestivum*. *Plant Sci.*, 301, e110670. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2020.110670>
32. 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>
33. Bai, Q., Wang, X., Chen, X., Shi, G., Liu, Z., Guo, C. & Xiao, K. (2018). Wheat miRNA Taemir408 acts as an essential mediator in plant tolerance to Pi deprivation and salt stress via modulating stress-associated physiological processes. *Front. Plant Sci.*, 18, No. 9, 499. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00499>
34. Banerjee, P. (2020). Plant abiotic stress responses and microRNAs. *Adv. Agricult.*, pp. 109-118. <https://doi.org/10.30954/NDP-advagr.2020.6>
35. Zeeshan, M., Qiu, C.W., Naz, S., Cao, F. & Wu, F. (2021). Genome-wide discovery of mirnas with differential expression patterns in responses to salinity in the two contrasting wheat cultivars. *Int. J. Mol. Sci.*, 22, No. 22, 12556. <https://doi.org/10.3390/ijms222212556>
36. Brosnan, C.A. & Voinnet, O. (2009). The long and the short of noncoding RNAs. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 21, No. 3, pp. 416-425. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2009.04.001>
37. D'Ario, M., Griffiths-Jones, S. & Kim, M. (2017). Small RNAs: big impact on plant development. *Trends Plant Sci.*, 22, No. 12, pp. 1056-1068. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2017.09.009>
38. Song, X., Li, Y., Cao, X. & Qi, Y. (2019). MicroRNAs and their regulatory roles in plant-environment interactions. *Ann. Rev. Plant Biol.*, 70, pp. 489-525. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050718-100334>
39. Lee, R.C., Feinbaum, R.L. & Ambros, V. (1993). The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell*, 75, No. 5, pp. 843-854. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(93\)90529-Y](https://doi.org/10.1016/0092-8674(93)90529-Y)
40. Yu, Y., Zhang, Y., Chen, X. & Chen, Y. (2019). Plant noncoding RNAs: hidden players in development and stress responses. *Ann. Rev. Cell Develop. Biol.*, 35, pp. 407-431. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-100818-125218>
41. Budak, H. & Akpinar, B.A. (2015). Plant miRNAs: biogenesis, organization and origins. *Funct. Int. Genom.*, 15, No. 5, pp. 523-531. <https://doi.org/10.1007/s10142-015-0451-2>
42. Zhang, B. & Wang, Q. (2016). MicroRNA, a new target for engineering new crop cultivars. *Bioengineered*, 7, No. 1, pp. 7-10. <https://doi.org/10.1080/21655979.2016.1141838>

43. Li, C. & Zhang, B. (2016). MicroRNAs in control of plant development. *J. Cell. Physiol.*, 231, No. 2, pp. 303-313. <https://doi.org/10.1002/jcp.25125>
44. Bhogireddy, S., Mangrauthia, S., Kumar, R., Pandey, A., Singh, S., Jain, A., Budak, H., Varshney, R. & Kudapa, H. (2021). Regulatory non-coding RNAs: a new frontier in regulation of plant biology. *Funct. Int. Gen.*, 21, pp. 313-330. <https://doi.org/10.1007/s10142-021-00787-8>
45. Sunkar, R., Li, Y.F. & Jagadeeswaran, G. (2012). Functions of microRNAs in plant stress responses. *Trends Plant Sci.*, 17, No. 4, pp. 196-203. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.01.010>
46. Skopelitis, D.S., Hill, K., Klesen, S., Marco, C.F., von Born, P., Chitwood, D. H. & Timmermans, C.P.M. (2018). Gating of miRNA movement at defined cell-cell interfaces governs their impact as positional signals. *Nature Comm.*, 9, No. 1, 3107. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05571-0>
47. Deng, P., Muhammad, S., Cao, M. & Wu, L. (2018). Biogenesis and regulatory hierarchy of phased small interfering RNAs in plants. *Plant Biotechnol. J.*, 16, No. 5, pp. 965-975. <https://doi.org/10.1111/pbi.12882>
48. Fahim, M., Millar, A.A., Wood, C.C. & Larkin, P.J. (2012). Resistance to wheat streak mosaic virus generated by expression of an artificial polycistronic microRNA in wheat. *Plant Biotechnol. J.*, 10, No. 2, pp. 150-163. <https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2011.00647.x>
49. Feng, H. Wang, B., Zhang, Q., Fu, Y., Huang, L., Wang, X. & Kang, Z. (2015). Exploration of microRNAs and their targets engaging in the resistance interaction between wheat and stripe rust. *Front. Plant Sci.*, 6, 469. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00469>
50. Jiao, J. & Peng, D. (2018). Wheat MicroRNA1023 suppresses invasion of *Fusarium graminearum* via targeting and silencing FGSG_03101. *J. Plant Int.*, 13, No. 1, pp. 514-521. <https://doi.org/10.1080/17429145.2018.1528512>
51. Kantar, M., Lucas, S.J. & Budak, H. (2011b). Drought stress. Molecular genetics and genomics approaches. *Adv. Bot. Res.*, 57, pp. 445-493. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-387692-8.00013-8>
52. Feng, H., Zhang, Q., Wang, Q., Wang, X., Liu, J. & Li, M. (2013). Target of taemIR408, a chemocyanin-like protein gene (TaCLP1), plays positive roles in wheat response to high-salinity, heavy cupric stress and stripe rust. *Plant Mol. Biol.*, 83, No. 4-5, pp. 433-443. <https://doi.org/10.1007/s11103-013-0101-9>
53. Tang, Z., Zhang, L., Xu, C., Yuan, S., Zhang, F., Zheng, Y. & Zhao, C. (2012). Uncovering small RNA-mediated responses to cold stress in a wheat thermosensitive genic malesterile line by deep sequencing. *Plant Physiol.*, 159, No. 2, pp. 721-738. <https://doi.org/10.1104/pp.112.196048>
54. Akpinar, B.A., Kantar, M. & Budak, H. (2015). Root precursors of microRNAs in wild emmer and modern wheats show major differences in response to drought stress. *Funct. Int. Genom.*, 15, No. 5, pp. 587-598. <https://doi.org/10.1007/s10142-015-0453-0>
55. Liu, H., Searle, I.R., Watson-Haigh, N.S., Baumann, U., Mather, D.E., Able, A.J. & Able, J.A. (2015). Genome-wide identification of microRNAs in leaves and the developing head of four durum genotypes during water deficit stress. *PLoS ONE*, 10, No. 11, e0142799. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0142799>
56. Liu, H., Able, A.J. & Able, J.A. (2016). Water-deficit stress-responsive microRNAs and their targets in four durum wheat genotypes. *Funct. Int. Genom.*, 17, pp. 237-251. <https://doi.org/10.1007/s10142-016-0515-y>
57. Budak, H., Khan, Z. & Kantar, M. (2015c). History and current status of wheat miRNAs using next-generation sequencing and their roles in development and stress. *Brief. Funct. Genom.*, 14, No. 3, pp. 189-198. <https://doi.org/10.1093/bfpg/elu021>
58. Kantar, M., Lucas, S.J. & Budak, H. (2011a). miRNA expression patterns of *Triticum dicoccoides* in response to shock drought stress. *Planta*, 233, pp. 471-484. <https://doi.org/10.1007/s00425-010-1309-4>
59. Ma, X., Xin, Z., Wang, Z., Yang, Q., Guo, X., Cao, L. & Lin, T. (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, 21. <https://doi.org/10.1186/s12870-015-0413-9>

60. Pandey, R., Joshi, G., Bhardwaj, A.R., Agarwal, M. & Katiyar-Agarwal, S.A. (2014). Comprehensive genome-wide study on tissue specific and abiotic stress-specific miRNAs in *Triticum aestivum*. PLoS ONE, 9, No. 4, e95800. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095800>
61. Li, Y.-F., Zheng, Y., Jagadeeswaran, G. & Sunkar, R. (2013). Characterization of small RNAs and their target genes in wheat seedlings using sequencing based approaches. Plant Sci., 203-204, pp. 17-24. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2012.12.014>
62. Zhou, L., Liu, Y., Liu, Z., Kong, D., Duan, M. Luo, L. & Notes, A. (2010). Genome-wide identification and analysis of drought-responsive microRNAs in *Oryza sativa*. J. Exp. Bot., 61, No. 15, pp. 4157-4168. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq237>
63. Sunkar, R., Girke, T., Jain, P.K. & Zhu, J.-K. (2005). Cloning and characterization of microRNAs from rice. Plant Cell, 17, No. 5, pp. 1397-1411. <https://doi.org/10.1105/tpc.105.031682>
64. Hua, Y., Zhang, C., Shi, W. & Chen, H. (2019). High-throughput sequencing reveals microRNAs and their targets in response to drought stress in wheat (*Triticum aestivum* L.). Biotechnol. Biotechnol. Equipment, 33, pp. 465-471. <https://doi.org/10.1080/13102818.2019.1586586>
65. Lu, W., Li, J., Liu, F., Gu, J., Guo, C., Xu, L., Zhang, H. & Xiao, K. (2011). Expression pattern of wheat miRNAs under salinity stress and prediction of salt-inducible miRNAs targets. Front. Agricult. China, 5, pp. 413-422. <https://doi.org/10.1007/s11703-011-1133-z>
66. Zhao, B., Ge, L., Liang, R., Li, W., Ruan, K., Lin, H. & Jin, Y. (2009). Members of miR-169 family are induced by high salinity and transiently inhibit the NF-YA transcription factor. BMC Mol. Biol., 10, 29. <https://doi.org/10.1186/1471-2199-10-29>
67. Wang, B., Fei Sun, Y., Son, N., Wei, J., Wang, X., Feng, H., Yin, Z. & Kang, Z. (2014). MicroRNAs involving in cold, wounding and salt stresses in *Triticum aestivum* L. Plant Physiol. Biochem., 80, pp. 90-96. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2014.03.020>
68. Xin, M., Wang, Y., Yao, Y., Xie, C., Peng, H., Ni, Z. & Sun, Q. (2010). Diverse set of microRNAs are responsive to powdery mildew infection and heat stress in wheat (*Triticum aestivum* L.). BMC Plant Biol., 10, 123. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-10-123>
69. Kumar, R.R., Pathak, H., Sharma, S.K., Kala, Y.K., Nirjal, M.K., Singh, G.P., Goswami, S. & Rai, R.D. (2015). Novel and conserved heat-responsive microRNAs in wheat (*Triticum aestivum* L.). Funct. Int. Genom., 15, No. 3, pp. 323-348. <https://doi.org/10.1007/s10142-014-0421-0>
70. Wang, Y., Sun, F., Cao, H., Peng, H., Ni, Z., Sun, Q. & Yao, Y. (2012). TamiR159 directed wheat TaGAMYB cleavage and its involvement in anther development and heat response. PLoS ONE, 7, No. 11, e48445. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0048445>
71. Goswami, S., Kumar, R.R. & Rai, R.D. (2014). Heat-responsive microRNAs regulate the transcription factors and heat shock proteins in modulating thermo stability of starch biosynthesis enzymes in wheat (*Triticum aestivum* L.) under the heat stress. Aust. J. Crop Sci., 8, No. 5, pp. 697-705.
72. Ragupathy, R., Ravichandran, S., Mahdi, M.S.R., Huang, D., Reimer, E., Domaratzki, M. & Cloutier, S. (2016). Deep sequencing of wheat sRNA transcriptome reveals distinct temporal expression pattern of miRNAs in response to heat, light and UV. Sci. Rep., 6, pp. 1-15. <https://doi.org/10.1038/srep39373>
73. Ravichandran, S., Ragupathy, R., Edwards, T., Domaratzki, M. & Cloutier, S. (2019). MicroRNA-guided regulation of heat stress response in wheat. BMC Genom., 20, No. 1, 488. <https://doi.org/10.1186/s12864-019-5799-6>
74. Al-Ashkar, I., Al-Suhaibani, N., Abdella, K., Sallam, M., Alotaibi, M. & Seleiman, M.F. (2021). Combining genetic and multidimensional analyses to identify interpretive traits related to water shortage tolerance as an indirect selection tool for detecting genotypes of drought tolerance in wheat breeding. Plants, 10, No. 5, 931. <https://doi.org/10.3390/plants10050931>
75. Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M., Zulfiqar, F., Raza, A., Mohsin, S.M., Mahmud, J.A., Fujita, M. & Fotopoulos, V. (2020). Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: revisiting the crucial role of a universal defense regulator. Antioxidants, 9, No. 8, 681. <https://doi.org/10.3390/antiox9080681>

76. Wasaya, A., Manzoor, S., Yasir, T.A., Sarwar, N., Mubeen, K., Ismail, I.A., Raza, A., Rehman, A., Hossain, A. & EL Sabagh, A. (2021). Evaluation of fourteen bread wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes by observing gas exchange parameters, relative water and chlorophyll content, and yield attributes under drought stress. *Sustainability*, 13, No. 9, 4799. <https://doi.org/10.3390/su13094799>
77. Al-Ashkar, I., Alderfasi, A., El-Hendawy, S., Al-Suhaibani, N., El-Kafafi, S. & Seleiman, M.F. (2019). Detecting salt tolerance in doubled haploid wheat lines. *Agronomy*, 9, No. 4, 211. <https://doi.org/10.3390/agronomy9040211>
78. Ferdous, J., Hussain, S.S. & Shi, B.J. (2015). Role of microRNAs in plant drought tolerance. *Plant Biotechnol. J.*, 13, pp. 293-305. <https://doi.org/10.1111/pbi.12318>
79. Yin, F., Gao, J., Liu, M., Qin, C., Zhang, W., Yang, A., Xia, M., Zhang, Z., Shen, Y., Lin, H., Luo, C. & Pan, G. (2014). Genomewide analysis of water-stress-responsive microRNA expression profile in tobacco roots. *Funct. Int. Genom.*, 14, No. 2, pp. 319-332. <https://doi.org/10.1007/s10142-014-0365-4>
80. Jung, I.L., Ryu, M., Cho, S.K., Shah, P., Lee, J.H., Bae, H., Kim, I.G. & Yang, S.W. (2015). Cesium toxicity alters MicroRNA processing and AGO1 expressions in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS ONE*, 10, No. 5, e0125514. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0125514>
81. Covarrubias, A.A. & Reyes, J.L. (2010). Post-transcriptional gene regulation of salinity and drought responses by plant microRNAs. *Plant, Cell, Environm.*, 33, No. 4, pp. 481-489. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2009.02048.x>
82. Budak, H., Kantar, M. & Kurtoglu, K.Y. (2015). Drought tolerance in modern and wild wheat. *Sci. World J.*, 548246. <https://doi.org/10.1155/2013/548246>
83. Ding, Y., Tao, Y. & Zhu, C. (2013). Emerging roles of microRNAs in the mediation of drought stress response in plants. *J. Exp. Bot.*, 64, No. 11, pp. 3077-3086. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert164>
84. Akdogan, G., Tufekci, E.D., Uranbey, S. & Unver, T. (2016). miRNA-based drought regulation in wheat. *Funct. Int. Genom.*, 16, No. 3, pp. 221-233. <https://doi.org/10.1007/s10142-015-0452-1>
85. Nemati, F., Ghanati, F., Ahmadi Gavlighi, H. & Sharifi, M. (2018). Comparison of sucrose metabolism in wheat seedlings during drought stress and subsequent recovery. *Biol. Plant.*, 62, pp. 595-599. <https://doi.org/10.1007/s10535-018-0792-5>
86. Kazan, K. (2017). The multitasking mediator25. *Front. Plant Sci.*, 8, 999. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00999>
87. Guilfoyle, T.J. & Hagen, G. (2007). Auxin response factors. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 10, No. 5, pp. 453-460. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2007.08.014>
88. Nakashima, K., Takasaki, H., Mizoi, J., Shinozaki, K. & Shinozaki, K.Y. (2012). NAC transcription factors in plant abiotic stress responses. *Biochim. Biophys. Acta*, 1819, No. 2, pp. 97-103. <https://doi.org/10.1016/j.bbagr.2011.10.005>
89. Zeeshan, M., Lu, M., Sehar, S., Holford, P. & Wu, F. (2020). Comparison of biochemical, anatomical, morphological, and physiological responses to salinity stress in wheat and barley genotypes differing in salinity tolerance. *Agronomy*, 10, No. 1, 127. <https://doi.org/10.3390/agronomy10010127>
90. Parihar, P., Singh, S., Singh, R., Singh, V.P. & Prasad, S.M. (2015). Effect of salinity stress on plants and its tolerance strategies: a review. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 22, No. 6, pp. 4056-4075. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3739-1>
91. Deinlein, U., Stephan, A.B., Horie, T., Luo, W., Xu, G. & Schroeder, J. (2014). Plant salt-tolerance mechanisms. *Trends. Plant Sci.*, 19, No. 6, pp. 371-379. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2014.02.001>
92. Hamamoto, S., Horie, T., Hauser, F., Deinlein, U., Schroeder, J.I. & Uozumi, N. (2015). HKT transporters mediate salt stress resistance in plants: from structure and function to the field. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 32, pp. 113-120. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2014.11.025>
93. Islam, W., Waheed, A., Naveed, H. & Zeng, F. (2022). MicroRNAs mediated plant responses to salt stress. *Cells*, 11, No. 18, 2806. <https://doi.org/10.3390/cells11182806>
94. Liu, H.H., Tian, X., Li, Y.-J., Wu, C.-A. & Zheng, C.C. (2008). Microarray-based analysis of stress-regulated microRNAs in *Arabidopsis thaliana*. *RNA*, 14, No. 5, pp. 836-843. <https://doi.org/10.1261/rna.895308>

95. Eren, H., Pekmezci, M. Y., Okay, S., Turktas, M., Inal, B., Ilhan, E., Atak, M., Erayman, M. & Unver, T. (2015). Hexaploid wheat (*Triticum aestivum*) root miRNome analysis in response to salt stress. *Ann. Appl. Biol.*, 167, No. 2, pp. 208-216. <https://doi.org/10.1111/aab.12219>
96. Deng, X., Hu, W., Wei, S., Zhou, S., Zhang, F., Han, J., Chen, L., Li, Y., Feng, J., Fang, B., Luo, Q., Li, S., Liu, Y., Yang, G. & He, G. (2013). TaCIPK29, a CBL-Interacting protein kinase gene from wheat, confers salt stress tolerance in transgenic tobacco. *PLoS ONE*, 8, No. 7, e69881. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0069881>
97. Schlenker, W. & Roberts, M.J. (2009). Nonlinear temperature effects indicate severe damages to U.S. crop yields under climate change. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 106, No. 37, pp. 15594-15598. <https://doi.org/10.1073/pnas.0906865106>
98. Hatfield, J.L. & Prueger, J.H. (2015). Temperature extremes: effect on plant growth and development. *Weather Clim Extrem.*, 10, pp. 4-10. <https://doi.org/10.1016/j.wace.2015.08.001>
99. Bitá, C.E. & Gerats, T. (2013). Plant tolerance to high temperature in a changing environment: scientific fundamentals and production of heat stresstolerant crops. *Front. Plant Sci.*, 4, 273. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00273>
100. Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Alam, M.M., Roychowdhury, R. & Fujita, M. (2013). Physiological, biochemical, and molecular mechanisms of heat stress tolerance in plants. *Int. J. Mol. Sci.*, 14, No. 5, pp. 9643-9684. <https://doi.org/10.3390/ijms14059643>
101. Liu, J., Feng, L., Li, J. & He, Z. (2015b). Genetic and epigenetic control of plant heat responses. *Front. Plant Sci.*, 6, 267. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00267>
102. Jiang, S., Lu, Y., Li, K., Lin, L., Zheng, H., Yan, F. & Chen, J. (2014). Heat shock protein 70 is necessary for Rice stripe virus infection in plants. *Mol. Plant Pathol.*, 15, No. 9, pp. 907-917. <https://doi.org/10.1111/mpp.12153>
103. Zuo, Z-F., He, W., Li, J., Mo, B. & Liu, L. (2021). Small RNAs: The essential regulators in plant thermotolerance. *Front. Plant Sci.*, 12, 726762. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.726762>
104. Sun, L., Wen, J., Peng, H., Yao, Y., Hu, Z., Ni, Z., Sun, Q. & Xin, M. (2022). The genetic and molecular basis for improving heat stress tolerance in wheat. *aBIOTECH*, 3, pp. 25-39. <https://doi.org/10.1007/s42994-021-00064-z>
105. Kumar, D., Singh, D., Kanodia, P., Prabhu, K.V., Kumar, M. & Mukhopadhyay, K. (2014a). Discovery of novel leaf rust responsive microRNAs in wheat and prediction of their target genes. *J. Nucleic Acids*, 570176. <https://doi.org/10.1155/2014/570176>
106. Song, J.B., Gao, S., Wang, Y., Li, B.W., Zhang, Y.L. & Yang, Z.M. (2016). miR394 and its target gene LCR are involved in cold stress response in *Arabidopsis*. *Plant Gene*, 5, pp. 56-64. <https://doi.org/10.1016/j.plgene.2015.12.001>
107. Akpınar, B.A. & Budak, H. (2016). Dissecting miRNAs in wheat D genome progenitor, *Aegilops tauschii*. *Front. Plant Sci.*, 7, pp. 1-17. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00606>

Received 04.04.2024

THE ROLE OF miRNAs IN THE REGULATION OF WHEAT RESISTANCE TO ABIOTIC STRESSES

O.V. Dubrovna, S.I. Mykhalska, A.G. Komisarenko

Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine
31/17 Vasylykivska St., Kyiv, 03022, Ukraine
e-mail: dubrovny@ukr.net

Wheat is a strategic grain crop in the world and plays a leading role in the food supply of mankind. Despite the generally increasing trend of its production, climatic changes leading to significant temperature changes, unpredictable precipitation or droughts significantly affect its yield. In order to prevent the negative impact of changes in climatic conditions on the productivity of this crop, it is necessary to develop innovative technologies for improving the resistance of wheat to abiotic stresses. RNA interference (RNAi) represents a new

potential tool for wheat breeding by introducing small non-coding RNA sequences with the ability to silence gene expression in a sequence-specific manner. The ability to reduce the expression of a specific gene provides the possibility of acquiring a new characteristic by eliminating or accumulating certain plant traits, which leads to biochemical or phenotypic changes that original plants do not have. This review presents modern ideas about the role of microRNAs (miRNAs), which are regulators of gene expression by inhibiting the translation of their mRNA-targets through complementary binding and cleavage, in the response of wheat plants to abiotic stresses. The main stages of the gene silencing mechanism mediated by miRNA are briefly presented. Features of their biogenesis, methods of action and distribution are described in detail. The identified wheat miRNAs responding to abiotic stresses, and their putative target genes are reviewed. Examples of differential expression of miRNA under the stress impact of drought, salinity, and temperature factors are given.

Key words: wheat, RNA interference, miRNA, resistance to abiotic stresses.

ORCID

О.В. ДУБРОВНА — O.V. Dubrovna <https://orcid.org/0000-0002-4884-7572>

С.І. МИХАЛЬСЬКА — S.I. Mykhalska <https://orcid.org/0000-0002-6644-5921>

А.Г. КОМІСАРЕНКО — A.G. Komisarenko <https://orcid.org/0000-0003-2081-4055>