

<https://doi.org/10.15407/frg2026.03.206>

УДК 579.254.2.633.11

ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ТРАНСГЕННИХ РОСЛИН ПШЕНИЦІ З ЧАСТКОВОЮ СУПРЕСІЄЮ ГЕНА ПРОЛІНДЕГІДРОГЕНАЗИ ЗА ПРИРОДНИХ УМОВ ВИРОЩУВАННЯ

О.В. ДУБРОВНА¹, Г.О. ПРЯДКІНА¹, Н.А. МАТВЄЄВА², В.П. ДУПЛІЙ²,
Я.І. РАТУШНЯК², Л.В. СЛИВКА¹

¹Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України
03022 Київ, вул. Васильківська, 31/17

²Інститут клітинної біології та генетичної інженерії Національної академії наук України
03143 Київ, вул. Академіка Заболотного, 148
e-mail: dubrovny@ukr.net

Пшениця є одним з найбільш стратегічно важливих зернових злаків, які зазнають негативного впливу посухи в багатьох регіонах світу і на всіх етапах розвитку культури — починаючи з моменту проростання і завершуючи фазою наливання зерна. Істотно підвищити толерантність до водного дефіциту цієї провідної сільськогосподарської культури можливо застосуванням методів генетичної інженерії. Часткове пригнічення експресії гена проліндегідрогенази (*ProDH*) приводить до підвищення вмісту вільного L-проліну і, як наслідок, рівня стійкості рослин пшениці до водного дефіциту. Оскільки за генетичної трансформації можуть виникати зміни у метаболізмі модифікованих рослин, метою роботи був порівняльний аналіз фізіолого-біохімічних характеристик трансгенних рослин озимої м'якої пшениці з частковою супресією гена *ProDH* та їх вихідних генотипів за природних умов вирощування. Показано, що вміст вільного проліну в листках рослин трансгенних ліній вищий у 1,7—1,8 раза порівняно з вихідним генотипом і змінюється залежно від фази онтогенезу. Аналіз змін вмісту вільного проліну по фазах онтогенезу показав, що вплив трансформації був значніший, ніж фази розвитку. Не виявлено істотних відмінностей між трансгенними та нетрансформованими рослинами за такими показниками, як вміст сумарного хлорофілу та загальних каротиноїдів, співвідношення вмісту загальних каротиноїдів до вмісту сумарного хлорофілу ($a+b$) в окремі фази онтогенезу, кількість флавоноїдів та антиоксидантна активність, елементи структури врожаю. Водночас за вмістом білка трансгенні лінії вірогідно перевищували вихідні генотипи: білковість зростала на 2,1—2,5 % (абс.), вміст клейковини — на 4,6—5,7 % (абс.).

Ключові слова: *Triticum aestivum* L., трансгенні рослини, вміст проліну, фотосинтетичні пігменти, флавоноїди, антиоксидантна активність, якість зерна, зернова продуктивність.

Цитування: Дубровна О.В., Прядкіна Г.О., Матвєєва Н.А., Дуплій В.П., Ратушняк Я.І., Сливка Л.В. Фізіолого-біохімічні особливості трансгенних рослин пшениці з частковою супресією гена проліндегідрогенази за природних умов вирощування. *Фізіологія рослин і генетика*. 2026. 58, № 3. С. 206—223. <https://doi.org/10.15407/frg2026.03.206>

This is open access article under the CC BY license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>)

Пшениця (*Triticum aestivum* L., AABBDD, $2n = 42$) є однією з основних продовольчих культур, яка вирощується на більш ніж 17 % орних земель і забезпечує харчування приблизно третини населення світу [1]. Попри загальну тенденцію зростання її виробництва в світі, кліматичні зміни, що призводять до значних температурних перепадів, непередбачуваних опадів або посух та появи нових рас патогенів і шкідників, істотно позначаються на продуктивності пшениці [2]. Глобальні кліматичні зміни та пов'язане з ними збільшення кількості ґрунтових і повітряних посух потребують розробки нових стратегій в адаптації рослин до цього стресового чинника [3]. Істотно підвищити толерантність до водного дефіциту цієї провідної сільськогосподарської культури можливо застосуванням методів генетичної інженерії, зокрема надекспресії генів, РНК-інтерференції та редагування геному [4, 5]. Тому й розробляють молекулярні біотехнології, спрямовані на отримання стійких генотипів інтеграцією в геном культурних рослин рекомбінантних молекул ДНК, здатних на генетичному рівні контролювати процеси адаптації/стійкості. Вважають, що одним із найперспективніших підходів є ідентифікація та використання генів, які контролюють синтез і катаболізм проліну. За останні роки отримано низку важливих наукових результатів як фундаментального, так і прикладного характеру щодо трансформації пшениці генами метаболізму проліну [6–8].

Вільний пролін є одним із найбільш багатофункціональних стресових метаболітів у рослин [9–11]. Крім добре відомої ролі як інертного сумісного осмоліту, пролін за дії стресорів виконує цілу низку інших взаємопов'язаних функцій, зокрема хелатора токсичних іонів металів [12], поглинача активних форм кисню (АФК) [13], окисно-відновного буфера [14], космотропної [15] та сигнальної молекули [16], здатної модулювати експресію стресчутливих генів та організовувати комплексну захисну відповідь. Його накопичення — добре відома фізіологічна реакція на осмотичний стрес, спричинений засоленням, посухою та іншими абіотичними чинниками, до того ж відносний внесок різних біологічних функцій проліну в розвиток толерантності рослин може змінюватися залежно від стадії адаптаційного процесу, фази онтогенезу, природи, інтенсивності й тривалості дії стресового чинника. Хоча було встановлено, що пролін є ключовим осмолітом, всі аспекти його фізіологічної функції за дії стресів та онтогенезу рослин залишаються маловивченими.

Разом з тим відомо, що ця амінокислота виконує низку функцій, які не пов'язані з адаптацією рослин до дії стресорів, але потрібні для розвитку рослин за нормальних умов. Пролін є однією із протеїногенних амінокислот, необхідних для біосинтезу білка [11]. Значна кількість проліну транспортується в репродуктивні органи рослин, де його накопичення є сигналом до початку колосіння [17], цвітіння [18], розвитку пилку, зародка та контролю фертильності [19]. Також він впливає на ріст коренів [20, 21], що свідчить про його роль у розвитку рослин, яка виходить за рамки функцій, пов'язаних зі стресом.

Молекулярні біотехнології на основі використання РНК-інтерференції становлять інтерес для створення культурних рослин із

підвищеним рівнем толерантності до абіотичних стресів, зокрема водного дефіциту [7]. Рівень вільного L-проліну можна збільшити, підвищенням його синтезу, або зниженням швидкості деградації. З цього погляду ген проліндегідрогенази (*ProDH*), пов'язаний з катаболізмом проліну, має практичне значення для генетичної інженерії, оскільки часткове пригнічення його експресії може приводити до підвищення вмісту вільного L-проліну і, як наслідок, — рівня стійкості рослин пшениці до водного дефіциту [22]. Є позитивний досвід введення генетичної конструкції, що містить дволанцюговий РНК-супресор гена *ProDH* арабідопсису, у рослини соняшника та кукурудзи, які у результаті накопичували у 1,5—9,0 разів більше цієї амінокислоти і відрізнялися від контрольних підвищеною толерантністю до водного дефіциту й засолення [8].

Відомо, що у результаті генетичної трансформації фізіолого-біохімічні характеристики рослин можуть змінюватись, причому як прогнозовано (у разі перенесення гена, що відповідає за змінювану ознаку), так і не прогнозовано (у випадку перенесення гена, що відповідає за іншу ознаку) [23]. У сучасній науковій літературі широко обговорюється питання стосовно відмінностей у метаболізмі проліну між трансгенними рослинами та рослинами дикого типу [24]. При цьому часто відсутня інформація щодо того, які саме зміни відбуваються у трансгенних рослинах та яким чином наявність перенесеного гена та його продуктів впливає на клітини і рослини загалом.

Метою нашої роботи був порівняльний аналіз фізіолого-біохімічних характеристик модифікованих рослин м'якої пшениці з частковою супресією гена проліндегідрогенази та їх вихідних генотипів за природних умов вирощування.

Методика

Об'єктом досліджень слугували нетрансформовані рослини нових генотипів пшениці м'якої озимої УК 065, УК 322/17, УК 997/19, створені в Інституті фізіології рослин і генетики НАН України, та генетично модифіковані лінії насінневого покоління T_2 , отримані на їх основі методом *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації *in planta*. Трансформацію рослин здійснювали в умовах вегетаційного дослідження інокуляцією кастрованих суцвіть. Генетичну модифікацію проводили з використанням бінарного вектора pBi2E, який включає інвертований повтор, що складається з фрагментів двох копій першого екзона та інтрона гена проліндегідрогенази арабідопсису, а також селективний ген неоміцинфосфотрансферази II (*nptII*) *E. coli*. Рослини вихідних генотипів і трансгенних ліній вирощували у дрібноділянковому досліді в умовах природного водозабезпечення на відокремленому й огороженому вегетаційному майданчику. Інтеграцію елементів векторної конструкції визначали методом ПЛР за наявністю фрагментів екзона та інтрона гена *ProDH1* арабідопсису та селективного гена неоміцинфосфотрансферази (*npt II*).

Фенологічні спостереження за фазами розвитку рослин здійснювали за зовнішніми морфологічними ознаками органів кожні 3—4 доби [25]. Визначення вмісту фотосинтетичних пігментів у прапорцевих

листках рослин проводили у фазі виходу в трубку (GS 37—39), початку колосіння (GS 51—53), цвітіння (GS 65—62), показники структури зернової продуктивності рослин — у фазу повної стиглості зерна (GS 89—92).

Вміст проліну визначали у зразках з середньої частини прапорцевих листків методом, заснованим на утворенні забарвленого продукту взаємодії між L-проліном і нінгідрином [26] з модифікаціями.

Вміст хлорофілів *a* і *b* та загальних каротиноїдів визначали безмацераційним методом екстракцією пігментів за методом Вельбуерна [27]. Для цього з усередненої з 5 зелених прапорцевих листків проби формували наважки у 100 мг, які заливали 10 мл диметилсульфоксиду. Пробірки ставили на 4 год у водяну баню (температура 60 °C). Після цього 0,5 мл отриманого розчину розбавляли 2,5 мл ДМСО і визначали його оптичну густину на спектрофотометрі Specord 200 (AnalyticJena, Germany) за довжин хвиль 480, 649 та 665 нм. Аналітична повторність визначень — триразова.

Погодні умови в період закладання, формування й дозрівання зерна (друга половина весняного та літній періоди), згідно з архівними даними Центральної геофізичної обсерваторії імені Бориса Срезневського, у 2025 р. загалом незначно відрізнялися від середніх багаторічних значень (табл. 1). Це свідчить, що за вирощування в природних умовах рослини не зазнавали істотного впливу температурного стресу або посухи.

Показники якості зерна (вміст білка, клейковини, твердозерність) визначали методом інфрачервоної спектроскопії за допомогою приладу Inframatic 8600 (Pertin, Швеція). Вимірювання здійснювали за температури 25 °C. Для аналізу використовували наважку шроту масою 40 г, який отримували розмелюванням на лабораторному млині Pertin LM 3100 (Pertin, Швеція).

Для визначення вмісту флавоноїдів використовували модифікований метод, який включає реакцію з хлоридом алюмінію [29]. Екстракт (0,25 мл) змішували з 1 мл деіонізованої води та 0,075 мл 5 %-го розчину NaNO_2 . Через 5 хв додавали 0,075 мл 10 %-го розчину AlCl_3 . Потім до реакційної суміші додавали 0,5 мл 1 М NaOH та 0,6 мл деіонізованої води. Поглинання зразків вимірювали за допомогою спектрофлуориметра Fluorat-02 RapoRama за $\lambda = 510$ нм. Вміст флавоноїдів оцінювали в мг/г сирової речовини листків в еквіваленті рутину за

калібрувальним графіком $C = 1,958x$, $R^2 = 0,988$.

Для визначення антиоксидантної активності використовували стандартну реакцію з 2,2-дифеніл-1-пікрилгідразильним радикалом (ДФПГ*, Sigma) [30]. Для цього 0,062—0,25 мл зразків дода-

ТАБЛИЦЯ 1. Метеорологічні умови квітня-липня 2025 р. та кліматичні норми (середнє за 1991—2020 рр.) у м. Києві (за даними ЦГО [28])

Показник	Квітень	Травень	Червень	Липень
Середня місячна температура повітря (°C)				
Кліматична норма	10,0	15,8	19,5	21,3
2025 р.	11,1	13,6	19,1	22,6
Місячна кількість опадів (мм)				
Кліматична норма	42	65	74	68
2025 р.	47	64	57	97

вали до 10^{-4} М розчину ДФПГ у 96 %-му етанолі та інкубували реакційну суміш упродовж 30 хв у темряві. Абсорбцію зразків вимірювали за $\lambda = 515$ нм спектрофлуориметром Fluorat-02 Rapoana. Відсоток активності поглинання радикалів (RSA) розраховували за формулою: $RSA = 100 (A_0 - A_1)/A_0$, де A_0 — абсорбція ДФПГ*, A_1 — абсорбція зразка. Еквівалентну концентрацію (EC_{50}) розраховували як кількість рослинного матеріалу, яка у реакційній суміші з розчином ДФПГ відповідала зменшенню його активності на 50 %. Використовували метод регресії на лінійному інтервалі кривої залежності RSA від концентрації екстракту. Групи вимірів перевіряли на нормальність методом Шапіро-Вілکا та тестом Левене на гомогенність дисперсій. Кореляційно-регресійний метод було застосовано для побудови калібрувальних прямих, знаходження EC_{50} та встановлення залежності антиоксидантної активності від концентрації флавоноїдів у екстрактах.

Статистичну обробку отриманих даних проведено за допомогою ANOVA та критерію достовірних відмінностей Tukey's-тесту за середніми значеннями. Повторність визначення вмісту проліну та фотосинтетичних пігментів: біологічна — 5, аналітична — 3; елементів структури зернової продуктивності — на 10 рослинах. Дані представлені як середньоарифметичне $\pm$ стандартна похибка ($\bar{x} \pm SE$). Різницю між середніми значеннями параметрів вважали вірогідною за $p < 0,05$.

Результати та обговорення

Раніше нами було показано, що трансгенні лінії озимої пшениці різних генотипів за нормальних умов вирощування характеризуються підвищеним рівнем вільного проліну (в 1,7—1,9 раза) у листках рослин на стадії виходу в трубку порівняно з вихідними [7]. Оскільки вміст проліну в даній культурі змінюється упродовж вегетації, виступаючи індикатором фізіологічного стану рослин, ми припустили, що трансформанти можуть відрізнятися за вмістом цієї сполуки від нетрансгенних рослин і на інших стадіях онтогенезу. Дослідження динаміки вмісту проліну та фотосинтетичних пігментів проводили в окремій фазі вегетації — від виходу в трубку і до цвітіння, які вважають найкритичнішими для продуктивності пшениці. Зокрема, умови під час появи прапорцевого листка впливають на довжину колоса та кількість зерен в ньому. Фаза колосіння є другою важливою репродуктивною стадією (після виходу в трубку) та найчутливішою до посухи [31]. У фазу початку колосіння визначається кількість квіток, які стануть повноцінними зернівками, та закладається кінцева продуктивність. Стадія цвітіння є періодом, найчутливішим до стресів (особливо до посухи та високих температур). Різкі перепади температур або нестача вологи на цій стадії призводять до «засихання» пилку, череззерниці (пустоцвітів) і, як наслідок, зменшення кількості зерен у колосі [32].

Вміст вільного L-проліну у прапорцевих листках рослин озимої пшениці вихідних ліній у фазу виходу в трубку варіював від $0,245 \pm 0,002$ мг/г сирої речовини у лінії УК 977/19 до $0,272 \pm 0,003$

мг/г сирової речовини у лінії УК 065 (табл. 2). У трансгенних генотипів він вірогідно збільшувався у 1,68—1,77 раза, що зумовлено частковою супресією гена *ProDH*. У фазу початку колосіння рівень амінокислоти підвищувався як у вихідних, так і трансгенних ліній, зокрема у вихідних генотипів — у 1,16—1,17 раза, а у модифікованих — 1,1—1,2 раза. Найбільший вміст вільного проліну був виявлений у фазу цвітіння. Порівняно з початком колосіння його рівень підвищувався у вихідних форм у 1,15—1,17 раза, а у трансгенних — у 1,15—1,18 раза. Впродовж періоду від виходу в трубку до цвітіння вміст цієї амінокислоти збільшився у вихідних ліній у 1,33—1,38 раза, так само як і у модифікованих.

У фазу цвітіння рівень вільного проліну зростав у прапорцевих листках як у вихідних, так і трансгенних рослин приблизно на 15 % порівняно з фазою початку колосіння. Це може бути пов'язано з підготовкою рослин до репродуктивної фази та початком перерозподілу поживних речовин, а також із інтенсивним метаболізмом у фотосинтезуючих тканинах і необхідністю захисту хлоропластів. Можна припустити, що шаперонні та антиоксидантні властивості проліну мають певне значення і за нестресових умов, оскільки нормальне функціонування фотосинтетичного апарату в клітинах мезофілу весь час супроводжується утворенням АФК і фотопошкодженням білків світлозбиральних комплексів, особливо на яскравому освітленні [33]. Високий рівень проліну в цей період свідчить про адаптацію. Пролін запобігає денатурації ферментів, необхідних для фотосинтезу, чинить антиоксидантну дію — знижує негативний вплив вільних радикалів, які активно утворюються за сонячної інсоляції. Наші багаторічні спостереження засвідчили, що у трансгенних генотипів з підвищеним вмістом проліну фаза цвітіння починалася на 1, а інколи — і на 2 доби раніше, ніж у нетрансформованих рослин. Проте, чи пов'язано це саме зі збільшення вмісту цієї амінокислоти, чи викликано якимось іншими причинами наразі невідомо.

Цікаво, що у нестресових умовах не спостерігається істотних відмінностей між трансгенними та нетрансгенними рослинами пше-

ТАБЛИЦЯ 2. Динаміка вмісту вільного проліну у прапорцевих листках рослин озимої пшениці вихідних та трансгенних ліній покоління T_2 ($n = 3 \times 5$, $\bar{x} \pm SE$)

Генотип	Вміст вільного проліну, мг/г сирової речовини		
	Фаза вегетації		
	Вихід в трубку	Початок колосіння	Цвітіння
УК 065, вихідний	0,272 $\pm$ 0,003	0,315 $\pm$ 0,002	0,362 $\pm$ 0,006
УК 065, T_2	0,457 $\pm$ 0,003*	0,549 $\pm$ 0,005*	0,629 $\pm$ 0,008*
УК 322/17, вихідний	0,250 $\pm$ 0,009	0,291 $\pm$ 0,011	0,337 $\pm$ 0,015
УК322/17, T_2	0,443 $\pm$ 0,013*	0,487 $\pm$ 0,009*	0,577 $\pm$ 0,021*
УК 977/19, вихідний	0,245 $\pm$ 0,002	0,287 $\pm$ 0,014	0,337 $\pm$ 0,008
УК 977/19, T_2	0,421 $\pm$ 0,006*	0,482 $\pm$ 0,016*	0,571 $\pm$ 0,007*

Примітка. * — різниця з відповідним вихідним генотипом істотна у кожному окремому етапі вегетації за $p < 0,05$.

ниці за винятком вмісту проліну. Проведений мета-аналіз трансгенних рослин, що експресують гени метаболізму проліну [24], за 16 фізіологічними і морфологічними параметрами, на які впливає водний дефіцит, засвідчив, що в умовах стресу більшість параметрів показали значно вищі коефіцієнти відповіді в трансгенній групі, підтверджуючи сприятливий вплив проліну під час посухи. Але за умов відсутності стресу більшість маркерів стресу не демонстрували істотних відмінностей між трансгенними та нетрансгенними рослинами, незважаючи на підвищений рівень проліну у перших. Ці результати дають змогу припустити, що користь проліну може бути пов'язана з його катаболізмом або проявлятися тільки під час стресу, можливо, через взаємодію з АФК, рівень яких зростає за стресових умов, та їх нейтралізацію [24]. Не виключено, що підвищений вміст амінокислоти у трансгенних рослин виконує не лише осмопротекторну, а й регуляторну функцію, пов'язану із прямим та/або опосередкованим залученням у сигнальні мережі [11, 34]. Зв'язок проліну з редокс-регуляцією та кількома метаболічними шляхами означає, що він є не лише захисною сполукою, а може діяти також як метаболічний сигнал, що контролює клітинний гомеостаз у відповідь на зміну умов навколишнього середовища [35].

Динаміка вмісту сумарного хлорофілу ($a+b$) у прапорцевих листках рослин озимої пшениці мала звичайний для цієї культури характер як для вихідних ліній озимої пшениці, так і їх трансформантів покоління T_2 : поступове зростання значень від фази виходу в трубку до фази цвітіння (табл. 3). За період від фази виходу в трубку до початку колосіння вміст цих пігментів зростав у окремих ліній на 4–8 %, за період початок колосіння—цвітіння — на 7–11 %. За погодних умов в цей період вегетації, близьких до кліматичної норми, істотної різниці за вмістом сумарного хлорофілу між генетично модифікованими лініями T_2 із дволанцюговим РНК-супресором гена проліндегідрогенази та відповідними вихідними генотипами не виявлено.

Аналогічною була динаміка вмісту каротиноїдів у прапорцевих листках рослин озимої пшениці: цей параметр також зростав від фа-

ТАБЛИЦЯ 3. Динаміка вмісту сумарного хлорофілу ($a+b$) у прапорцевих листках рослин озимої пшениці вихідних та трансгенних ліній покоління T_2 ($n = 3 \times 5$, $\bar{x} \pm SE$)

Генотип	Вміст сумарного хлорофілу ($a+b$), мг/г сирої речовини		
	Фаза вегетації		
	Вихід в трубку	Початок колосіння	Цвітіння
УК 065, вихідний	3,12 $\pm$ 0,07 ^a	3,36 $\pm$ 0,08 ^a	3,62 $\pm$ 0,12 ^a
УК 065, T_2	3,13 $\pm$ 0,10 ^a	3,27 $\pm$ 0,13 ^a	3,58 $\pm$ 0,15 ^a
УК 322/17, вихідний	2,85 $\pm$ 0,08 ^b	2,95 $\pm$ 0,15 ^b	3,29 $\pm$ 0,09 ^b
УК 322/17, T_2	2,94 $\pm$ 0,02 ^b	3,07 $\pm$ 0,06 ^{ab}	3,37 $\pm$ 0,06 ^{ab}
УК 977/19, вихідний	2,77 $\pm$ 0,09 ^b	2,88 $\pm$ 0,04 ^b	3,12 $\pm$ 0,07 ^b
УК 977/19, T_2	2,77 $\pm$ 0,11 ^b	2,89 $\pm$ 0,06 ^b	3,10 $\pm$ 0,08 ^b

Примітка. Тут і у табл. 4–6 для кожної фази значення, позначені однаковими латинськими літерами, істотно не відрізняються між собою за $p < 0,05$.

зи виходу в трубку до фази цвітіння (табл. 4). Проте істотної різниці за їх кількістю, як і для сумарного хлорофілу, між генетично модифікованими лініями T_2 та відповідними вихідними генотипами не виявлено (табл. 4).

Показник співвідношення вмісту каротиноїдів до хлорофілу використовують для оцінки змін у розвитку рослин, зокрема старіння, а також реакції рослин на стрес [36]. Встановлено, що за співвідношенням вмісту загальних каротиноїдів до вмісту сумарного хлорофілу в прапорцевих листках рослин озимої пшениці в окремі фази вегетації — від виходу в трубку до цвітіння — вихідні лінії істотно не відрізнялися від відповідних ліній-трансформантів покоління T_2 (табл. 5).

З фотосинтетичними пігментами пов'язано декілька функцій в рослинному організмі. Хлорофіли *a* та *b* відіграють основну роль в абсорбції рослинами енергії світла та перенесення її в реакційні центри фотосистем I та II. Каротиноїди за низької інтенсивності освітлення разом із хлорофілом функціонують як антени для поглинання та передавання світла, а за його високої інтенсивності — навпаки, беруть участь у захисті фотосинтетичного апарату, зокрема ФС II, від фоторуйнування [37—39]. Також встановлено, що β -каротин та його похідні є важливими метаболітами у модуляції статевого розмноження рослин. Зокрема, він регулює проростання пилку та ріст трубочок

ТАБЛИЦЯ 4. Динаміка вмісту загальних каротиноїдів у прапорцевих листках рослин озимої пшениці вихідних та трансгенних ліній покоління T_2 ($n = 3 \times 5$, $x \pm SE$)

Генотип	Вміст загальних каротиноїдів, мг/г сирої речовини		
	Фаза вегетації		
	Вихід в трубку	Початок колосіння	Цвітіння
УК 065, вихідний	0,51 $\pm$ 0,02 ^a	0,58 $\pm$ 0,02 ^a	0,66 $\pm$ 0,03 ^a
УК 065, T_2	0,53 $\pm$ 0,01 ^a	0,58 $\pm$ 0,01 ^a	0,68 $\pm$ 0,01 ^a
УК 322/17, вихідний	0,47 $\pm$ 0,02 ^{ab}	0,51 $\pm$ 0,03 ^b	0,62 $\pm$ 0,02 ^{ab}
УК 322/17, T_2	0,50 $\pm$ 0,01 ^a	0,55 $\pm$ 0,01 ^{ab}	0,63 $\pm$ 0,02 ^{ab}
УК 977/19, вихідний	0,48 $\pm$ 0,01 ^a	0,50 $\pm$ 0,02 ^b	0,62 $\pm$ 0,02 ^{ab}
УК 977/19, T_2	0,50 $\pm$ 0,01 ^a	0,51 $\pm$ 0,03 ^b	0,59 $\pm$ 0,02 ^b

ТАБЛИЦЯ 5. Співвідношення вмісту загальних каротиноїдів до вмісту сумарного хлорофілу ($a+b$) у прапорцевих листках рослин озимої пшениці вихідних ліній та їх трансформантів покоління T_2 в окремі фази вегетації ($n = 3 \times 5$, $x \pm SE$)

Генотип	Фаза вегетації		
	Вихід в трубку	початок колосіння	цвітіння
УК 065, вихідний	0,165 $\pm$ 0,009 ^a	0,174 $\pm$ 0,001 ^a	0,183 $\pm$ 0,002 ^a
УК 065, T_2	0,168 $\pm$ 0,006 ^a	0,177 $\pm$ 0,007 ^a	0,190 $\pm$ 0,008 ^a
УК 322/17, вихідний	0,165 $\pm$ 0,004 ^a	0,174 $\pm$ 0,003 ^a	0,189 $\pm$ 0,007 ^a
УК 322/17, T_2	0,168 $\pm$ 0,001 ^a	0,180 $\pm$ 0,004 ^a	0,187 $\pm$ 0,006 ^a
УК 977/19, вихідний	0,174 $\pm$ 0,007 ^a	0,184 $\pm$ 0,006 ^a	0,195 $\pm$ 0,005 ^a
УК 977/19, T_2	0,170 $\pm$ 0,007 ^a	0,175 $\pm$ 0,007 ^a	0,190 $\pm$ 0,002 ^a

у томатів через механізм контролю гомеостазу АФК [40]. Крім того, каротиноїди є попередниками для синтезу рослинних гормонів, таких як стріголактон та абсцизова кислота [41].

Отже, за нестресових умов у наших дослідках не виявлено істотної різниці між генетично модифікованими лініями пшениці та їх вихідними генотипами за вмістом і співвідношенням фотосинтетичних пігментів у прапорцевих листках. Відсутність істотних змін вмісту та співвідношення фотосинтетичних пігментів у трансгенних ліній озимої пшениці із частковою супресією гена проліндегідрогенази порівняно з відповідними вихідними генотипами свідчить про те, що за нестресових умов збільшення вмісту вільного проліну не вплинуло на їх пігментний апарат. За літературними даними, збільшення вмісту хлорофілу у пшениці з вищим вмістом проліну здебільшого відзначають у листках проростків. До того ж, позитивну кореляцію між вмістом проліну та хлорофілу показано переважно за дії стресів — зокрема осмотичного [42, 43], а також за дії кадмію [44]. Нами було виявлено, що у фазу розкривання піхви прапорцевого листка за дії водного дефіциту вміст сумарного хлорофілу в листках рослин трансгенних ліній був істотно вищим, а співвідношення вмісту каротиноїдів до хлорофілу нижчим, ніж у рослин вихідних генотипів [7].

Флавоноїди — це велика група рослинних метаболітів, основна функція яких полягає у захисті від ультрафіолету, пошкоджень вільними радикалами, хвороб та шкідників. Асенсторфер та співавт. [45] встановили хімічну структуру деяких флавоноїдів, наявних у рослинах *T. aestivum* як у листках, так і зерні колосових злаків. У екстрактах з листків рослин пшениці, які містили флавоноїди у концентрації 40,42/22,83 мкг/мл (залежно від типу екстрагента), підтверджено наявність антиоксидантної активності [46]. Аналогічно, за результатами комплексного дослідження біохімічного складу, підтверджено як наявність флавоноїдів, так і їхню антиоксидантну активність у зерні пшениці [47]. Показано, що вміст флавоноїдів у зерні залежить від сорту, кольору зерна та умов вирощування [48]. Загалом ці сполуки зосереджені переважно у висівкових фракціях (зовнішніх оболонках). Середні показники вмісту флавоноїдів у зерні пшениці становлять у чорнозерної пшениці — 36,1 мкг/г, а у червонозерної — близько 29,0 мкг/г [48].

Аналіз вмісту флавоноїдів у проростках пшениці показав, що відмінності за вмістом флавоноїдів між трансгенними лініями та рослинами відповідних генотипів були неістотними (рис. 1). Так, вміст цих сполук у вихідній лінії УК 065 становив $4,91 \pm 0,09$ мг РЕ/г сирової речовини, а у трансгенній лінії T_2 — $4,57 \pm 0,56$ мг РЕ/г сирової речовини ($p > 0,05$). Аналогічно, у вихідній лінії УК 322/17 вміст флавоноїдів дорівнював $2,76 \pm 0,71$ мг РЕ/г сирової речовини, а у трансгенній лінії T_2 — $3,25 \pm 0,42$ мг РЕ/г сирової речовини. Отже, генетична трансформація та наявність перенесених генів не вплинули на біосинтез флавоноїдів: їх вміст в екстрактах контрольних і генетично модифікованих рослин статистично не відрізнявся. Водночас слід відзначити, що у нетрансформованих рослин лінії УК 065 вміст флавоноїдів був більшим, ніж у вихідних рослин лінії УК 322/17; так само транс-

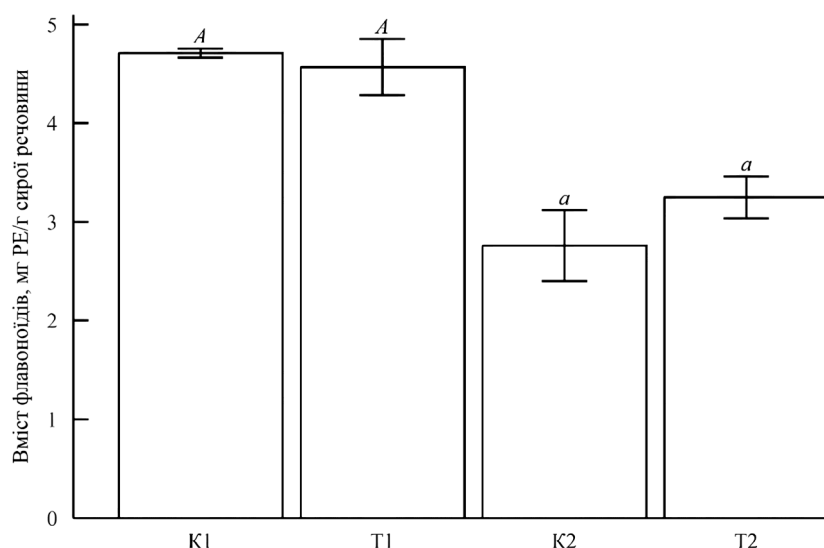


Рис. 1. Вміст флавоноїдів у зразках проростків пшениці: K1 — УК 065, вихідна лінія; T1 — УК 065, трансгенна лінія покоління T2; K2 — УК 322/17, вихідна лінія; T2 — УК 322/17, трансгенна лінія покоління T2 (тут і на рис. 2 — однакові літери показують відсутність значущих відмінностей між середніми ($p < 0,05$), великі та малі літери стосуються різних порівнянь)

генні рослини УК 065 мали більшу концентрацію цих сполук, ніж трансгенні рослини лінії УК 322/17 ($p < 0,05$). Отже, існує генотипна різниця за вмістом флавоноїдів у проростках пшениці.

Аналіз особливостей біологічної активності, зокрема антиоксидантної активності, яка може бути пов'язана з флавоноїдами, також не виявив відмінностей між трансгенними та вихідними рослинами (рис. 2). Оскільки еквівалентна концентрація (EC_{50}) визначалася як кількість рослинного матеріалу, яка у реакційній суміші з розчином ДФПГ відповідала зменшенню активності радикала на 50 %, то чим менший показник EC_{50} , тим вища антиоксидантна активність зразка, який досліджується. Згідно з отриманими даними, еквівалентна концентрація EC_{50} екстрактів з трансгенних рослин лінії УК 065 становила $9,79 \pm 0,13$ мг сирої речовини, а відповідна активність екстракту з вихідних рослин УК 065 була $11,47 \pm 0,62$ мг сирої речовини ($p > 0,05$); активність екстракту з трансгенних рослин лінії УК 322/17 за EC_{50} дорівнювала $12,35 \pm 1,29$ мг сирої речовини, а активність екстракту з відповідних вихідних рослин УК 322/17 — $14,34 \pm 1,43$ мг сирої речовини ($p > 0,05$). Отже, відмінності середніх значень антиоксидантної активності екстрактів контрольних і генетично модифікованих рослин за параметром EC_{50} знаходились в межах статистичної похибки.

Кореляційно-регресійний аналіз даних стосовно вмісту флавоноїдів та антиоксидантної активності (рис. 3) виявив залежність антиоксидантної активності від вмісту флавоноїдів у екстрактах ($y = 18,4 - 1,68x$, $R^2 = 0,5$), тобто більшій концентрації флавоноїдів відповідала вища антиоксидантна активність (а саме менший показник EC_{50}).

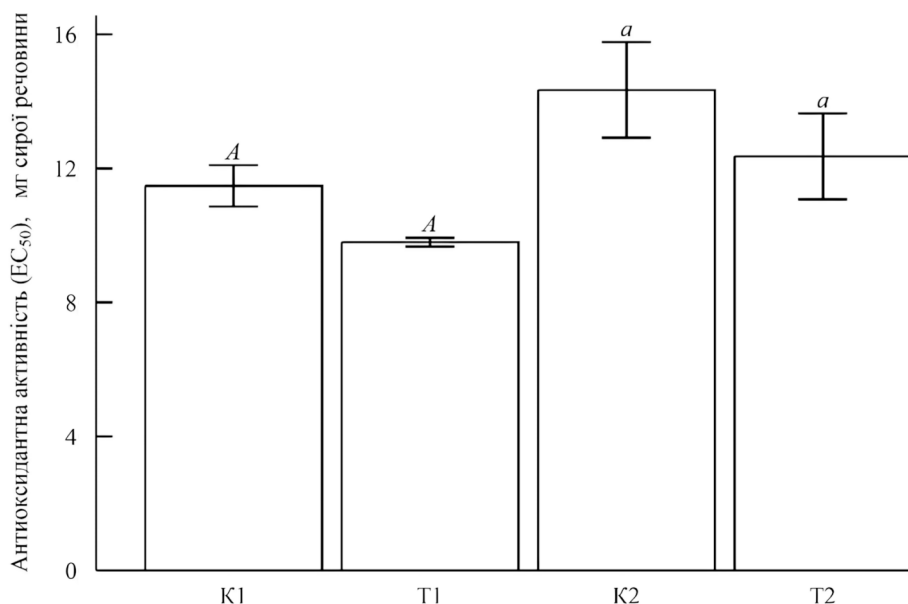


Рис. 2. Антиоксидантна активність етанольних (70 %) екстрактів з проростків пшениці: K1 — УК 065, вихідна лінія; T1 — УК 065, трансгенна лінія покоління T₂; K2 — УК 322/17, вихідна лінія; T2 — УК 322/17, трансгенна лінія покоління T₂

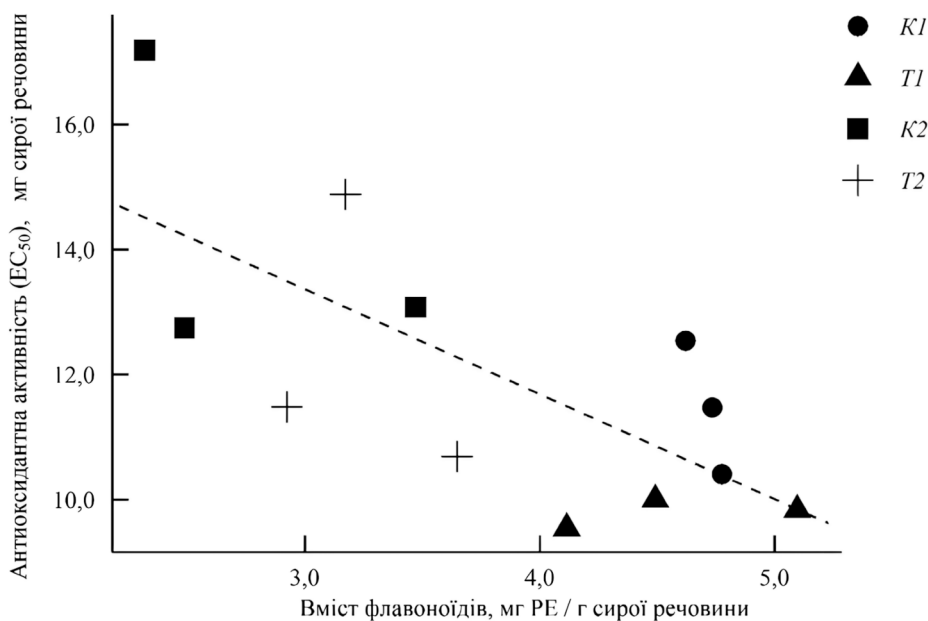


Рис. 3. Кореляційно-регресійний аналіз вмісту флавоноїдів та антиоксидантної активності: K1 — УК 065, вихідна лінія; T1 — УК 065, трансгенна лінія покоління T₂; K2 — УК 322/17, вихідна лінія; T2 — УК 322/17, трансгенна лінія покоління T₂

Відомо, що флавоноїди є одними з найважливіших вторинних метаболітів рослин, які проявляють високу антиоксидантну активність [49]. Ці сполуки також відіграють важливу роль у різних фізіологічних процесах рослин, включно реакції на стрес та взаємодію рослини з навколишнім середовищем [50]. Згідно з даними низки

досліджень, рослинні екстракти, які мають більший вміст флавоноїдів, зазвичай демонструють вищий рівень антиоксидантної активності [51—53]. Зокрема, у реакції з ДФПГ* така біоактивність відображається нижчими значеннями EC_{50} , що відповідає більшій здатності екстрактів інгібувати ДФПГ* [54]. Раніше нами також було виявлено кореляцію між вмістом флавоноїдів та антиоксидантною активністю у трансгенних коренях рослин різних видів [55]. Це вказує на те, що концентрація флавоноїдів є одним з важливих факторів, які впливають на антиоксидантну активність рослин. Такий ефект може бути пояснений структурними характеристиками флавоноїдів, зокрема наявністю у них гідроксильних груп.

Порівняльний аналіз основних елементів структури врожайності у рослин вихідних і трансгенних ліній озимої пшениці за нестресових умов показав, що відмінності між ними були неістотними (табл. 6). Зокрема, вони не відрізнялись за кількістю зерен з рослини. Найбільшу їх кількість спостерігали у генотипу УК 322/17 (101—102 шт.), тоді як у двох інших генотипів вона була на 9—10 шт. меншою. Усі досліджені лінії також істотно не відрізнялися ні за масою зерна з рослини, ні за масою 1000 зерен (табл. 6). Отже, за нормальних умов вирощування біотехнологічні рослини не відрізнялися за зерновою продуктивністю від рослин відповідних вихідних генотипів.

Якість зерна й хлібопекарські властивості борошна — найважливіші показники для хлібних злаків, серед яких провідну роль відіграють білки зерна. Важливим показником якості зерна є вміст білка, який тісно корелює з вмістом клейковини. Нами проаналізовані технологічні показники якості зерна у вихідних і трансгенних ліній озимої пшениці, зокрема вміст білка, клейковини та твердозерність (табл. 7).

Не виявлено істотних відмінностей за вологістю зерна між трансгенними та нетрансгенними генотипами. Також не встановлено різниці за показником твердозерності — у вихідних ліній він коливався від 17 до 28 одиниць приладу, а у трансгенних змінювався від 21 до 24 одиниць, що характерно для звичайних м'якозерних сортів пшениці. Разом з тим, за вмістом білка та клейковини трансгенні лінії вірогідно перевищували вихідні генотипи. У модифікованих генотипів з підвищеним вмістом проліну кількість білка зростала на 2,1—2,5 % (абс.), клейковини — на 4,6—5,7 % (абс.).

ТАБЛИЦЯ 6. Показники структури врожаю рослин озимої пшениці вихідних та трансгенних ліній покоління T_2 ($n = 10$, $\bar{x} \pm SE$)

Генотип	Кількість зерен, шт.	Маса зерна, г	Маса 1000 зерен, г
УК 065, вихідний	92,7 $\pm$ 4,1 ^b	3,861 $\pm$ 0,092 ^a	41,59 $\pm$ 1,81 ^a
УК 065, T_2	92,1 $\pm$ 4,2 ^b	3,762 $\pm$ 0,114 ^a	40,82 $\pm$ 1,04 ^a
УК 322/17, вихідний	102,1 $\pm$ 4,1 ^a	4,024 $\pm$ 0,186 ^a	39,48 $\pm$ 1,10 ^a
УК 322/17, T_2	100,9 $\pm$ 8,3 ^a	3,933 $\pm$ 0,264 ^a	39,00 $\pm$ 1,27 ^a
УК 977/19, вихідний	90,7 $\pm$ 2,4 ^b	3,770 $\pm$ 0,096 ^a	41,64 $\pm$ 1,10 ^a
УК 977/19-14, T_2	91,5 $\pm$ 3,9 ^b	3,825 $\pm$ 0,066 ^a	41,99 $\pm$ 1,45 ^a

ТАБЛИЦЯ 7. Технологічні показники якості зерна у вихідних та трансгенних ліній озимої пшениці

Генотип	Білок, %	Клейковина, %	Вологість, %	Твердозерність, од. приладу
УК 065, вихідний	15,0±0,2	32,0±0,9	11,2	28
УК 065, T ₂	17,5±0,3	37,7±1,1	11,2	24
УК 322/17, вихідний	11,4±0,1	23,6±0,5	11,7	21
УК 322/17, T ₂	13,7±0,2	29,0±0,7	11,9	24
УК 977/19, вихідний	10,2±0,1	21,1±0,4	11,7	17
УК 977/19-14, T ₂	12,3±0,2	25,7±0,5	11,6	21

Чи пов'язане це з кількістю проліну або ж якимись іншими механізмами поки залишається неясним і потребує подальших досліджень. На нашу думку, зростання вмісту білка у зерні трансгенних рослин з підвищеним вмістом проліну за нормальних умов вегетації може бути зумовлене кількома ключовими чинниками: змінами в азотному обміні та захистом клітинних структур. Пролін є не лише структурним компонентом, а й сигнальною молекулою, тому його надлишок стимулює активність ферментів (наприклад, нітратредуктази), що пришвидшує поглинання азоту з ґрунту та його включення в амінокислоти.

Також ця амінокислота працює як шаперон, стабілізуючи структуру білків і мембран, підтримує роботу рибосом, захищає ферменти, які відповідають за синтез білка, від денатурації, що дає змогу апарату трансляції працювати інтенсивніше та робить процес біосинтезу ефективнішим. Оскільки пролін є метаболічним попередником або регулятором для інших циклів (наприклад, циклу трикарбонових кислот), його накопичення побічно стимулює синтез інших амінокислот, які згодом йдуть на побудову запасних білків зерна (глютенінів і гліадинів). Також пролін виступає як антиоксидант, знижуючи рівень окиснювального стресу, що гальмує процеси руйнування білків (протеолізу), допомагаючи їм накопичуватися в ендоспермі.

Підвищений рівень проліну запобігає передчасній деградації клітин, дає змогу рослині ефективніше перенаправляти амінокислоти та поживні речовини з листків до колоса під час дозрівання. Висока концентрація проліну може активувати експресію певних генів (так званих пролінчутливих генів), які стимулюють загальний метаболізм. Крім цього, завдяки захисту хлоропластів рослина довше зберігає активність фотосинтетичного апарату, що забезпечує енергією синтез запасних білків зерна. Тобто загалом трансгенні рослини мають «перенасичений» азотний фонд і стабільнішу систему синтезу, що в сумі дає вищий вихід білка в зерні.

Встановлено, що між вмістом білка та клейковини (глютену) існує висока позитивна кореляція [56], чим і зумовлено збільшення вмісту глютену у трансгенних рослин різних генотипів. Слід зазначити, що пролін є однією з основних амінокислот у складі білків глютену, а його вміст у клейковині пшениці становить приблизно 10–15 % загальної кількості амінокислот, проте у складі окремих білків

клейковини, таких як гліадини, вміст проліну може бути ще вищим. Саме високий рівень проліну забезпечує унікальні в'язко-еластичні властивості тіста (здатність розтягуватися та утримувати вуглекислий газ).

Таким чином, порівняльний аналіз фізіолого-біохімічних характеристик модифікованих ліній м'якої пшениці з частковою супресією гена проліндегідрогенази та їх вихідних генотипів за нормальних умов вирощування показав, що між трансгенними й нетрансгенними рослинами немає істотних відмінностей, за винятком вмісту проліну в листках і білка у зерні. Попри високий рівень проліну, наявний в трансгенних рослинах, майже всі фізіолого-біохімічні показники демонстрували подібні значення за нестресових умов. Це свідчить про те, що переваги високого вмісту проліну можуть сильніше проявлятися саме під час стресу, імовірно, через взаємодію з АФК [24]. Поява нових відомостей про мультифункціональність проліну як стресового метаболіту [35] спонукає до пошуку більш об'єктивних способів аналізу даних щодо його накопичення рослинами різних видів і можливих зв'язків між його вмістом та стійкістю рослин до конкретних стресових чинників.

Внесок авторів: *концепція та дизайн дослідження* — О.В. Дубровна, Г.О. Прядкіна, Н.А. Матвєєва; *отримання даних* — О.В. Дубровна, Г.О. Прядкіна, Н.А. Матвєєва, В.П. Дуплій, Я.І. Ратушняк, Л.В. Сливка; *аналіз та інтерпретація результатів* — О.В. Дубровна, Г.О. Прядкіна, Н.А. Матвєєва; *підготовка рукопису* — О.В. Дубровна, Г.О. Прядкіна, Н.А. Матвєєва, В.П. Дуплій, Я.І. Ратушняк, Л.В. Сливка; *написання первинного тексту статті* — О.В. Дубровна, Г.О. Прядкіна, Н.А. Матвєєва, В.П. Дуплій; *підготовка рукопису* — *перегляд і редагування* — О.В. Дубровна, Г.О. Прядкіна, Н.А. Матвєєва.

Всі автори переглянули і схвалили остаточну версію рукопису.

Конфлікт інтересів: автори декларують відсутність конфлікту інтересів.

REFERENCES

1. Erenstein, O., Jaleta, M., Mottaleb, K.A., Sonder, K., Donovan, J. & Braun H.-J. (2022). Global trends in wheat production, consumption and trade. In M.P. Reynolds & H.J. Braun (Eds.). *Wheat improvement* (pp. 47-66). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-90673-3_4
2. Hossain, A., Skalicky, M., Brestic, M., Maitra, S., Alam, M.A., Syed, M.A., Hossain, J., Sarkar, S., Saha, S., Bhadra, P., Shankar, T., Bhatt, R., Chaki, A.K., Sabagh, A.E. & Islam, T. (2021). Consequences and mitigation strategies of abiotic stresses in wheat (*Triticum aestivum* L.) under the changing climate. *Agronomy*, 11, No. 2, 241. <https://doi.org/10.3390/agronomy11020241>
3. Bapela, T., Shimelis, H., Tsilo, T.J. & Mathew, I. (2022). Genetic improvement of wheat for drought tolerance: progress, challenges and opportunities. *Plants*, 11, No. 10, 1331. <https://doi.org/10.3390/plants11101331>
4. El-Mouhamady, A., El-Hawary, M. & Habouh, M. (2023). Transgenic wheat for drought stress tolerance: A Review. *Middle East J. Agric. Res.*, 12, No. 1, pp. 77-94. <https://www.curreweb.com/index.php/MEJAR1/issue/view/18>
5. Yerlikaya, B.A., Mostafa, K., Aydin, A., Yerlikaya, S., Mehmood, M., Yilmaz, N.N., Yildirim, K. & Kavas, M. (2024). Innovations in plant genome editing and biotechnology: addressing global agricultural challenges. *Turk. J. Bot.*, 48, No. 7, pp. 351-375. <https://doi.org/10.55730/1300-008X.2823>
6. Anwar, A., Wang, K. & Wang, J. (2021). Expression of Arabidopsis Ornithine Amino-transferase (AtOAT) encoded gene enhances multiple abiotic stress tolerances in wheat. *Plant Cell Rep.*, 40, No. 7, pp. 1155-1170. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-175437/v1>

7. Dubrovna, O.V., Mykhalska, S.I. & Komisarenko, A.G. (2022). Using of proline metabolism genes in plant genetic engineering. *Cytol. Genet.*, 56, No. 4, pp. 361-378. <https://doi.org/10.3103/S009545272204003X>
8. Mykhalska, S.I., Komisarenko, A.G. & Kurchii, V.M. (2021). Genes of proline metabolism in biotechnology of increasing wheat osmostability. *Factors in experimental evolution of organisms*, 28, pp. 94-99. <https://doi.org/10.7124/FEEO.v28.1382>
9. Ozturk, M., Turkyilmaz, B., Garcia-Caparrros, P., Khursheed, A., Gul, A. & Hasanuzzaman, M. (2021). Osmoregulation and its actions during the drought stress in plants. *Physiol. Plant.*, 172, No. 2, pp. 1321-1335. <https://doi.org/10.1111/ppl.13297>
10. Raza, A., Charagh, S., Abbas, S., Hassan, M.U., Saeed, F., Haider, S., Sharif, R., Anand, A., Corpas, F.J., Jin, W. & Varshney, R.K. (2023). Assessment of proline function in higher plants under extreme temperatures. *Plant Biol.*, 25, No. 3, pp. 379-395. <https://doi.org/10.1111/plb.13510>
11. Kolupaev, Yu.E. & Shkliarevskiy, M.A. (2025). Accumulation of proline in vegetative organs of *Triticum aestivum* (Poaceae) under drought conditions in the early phases of development: a meta-analysis of data. *Ukr. Bot. J.*, 82, No. 4, pp. 277-290 [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.15407/ukrbotj82.04.277>
12. Atta, N., Shahbaz, M., Farhat, F., Maqsood, M.F., Zulfiqar, U., Naz, N., Ahmed, M.M., Hassan, N.U., Mujahid, N., Mustafa, A.E.Z.M., Elshikh, M. & Chaudhary, T. (2024). Proline-mediated redox regulation in wheat for mitigating nickel-induced stress and soil decontamination. *Sci. Rep.*, 14, 456. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-50576-5>
13. Rehman, A.U., Bashir, F., Ayaydin, F., Kota, Z., Pali, T. & Vass, I. (2021). Proline is a quencher of singlet oxygen and superoxide both in in vitro systems and isolated thylakoids. *Physiol. Plant.*, 172, 7-18. <https://doi.org/10.1111/ppl.13265>
14. Ghosh, U.K., Islam, M.N., Siddiqui, M.N., Cao, X. & Khan M.A.R. (2022). Proline, a multifaceted signalling molecule in plant responses to abiotic stress: understanding the physiological mechanisms. *Plant Biol.*, 24, No. 2, pp. 227-239. <https://doi.org/10.1111/plb.13363>
15. Forlani, G., Trovato, M., Funck, D. & Signorelli, S. (2019). Regulation of proline accumulation and its molecular and physiological functions in stress defence. In M.A. Hossain, V. Kumar, D.J. Burritt, M. Fujita, & P.S.A. Makela (Eds.) *Osmo-protectant-Mediated Abiotic Stress Tolerance in Plants: Recent Advances and Future Perspectives* (pp. 73-97). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-27423-8>
16. Zhang, L. & Becker, D.F. (2015). Connecting proline metabolism and signaling pathways in plant senescence. *Front. Plant Sci.*, 6, 552. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00552>
17. Nanjo, T., Kobayashi, M., Yoshida, Y., Sanada, Y., Wada, K., Tsukaya, H., Kakubari, Y., Yamaguchi-Shinozaki, K. & Shinozaki, K. (1999). Biological functions of proline in morphogenesis and osmotolerance revealed in antisense transgenic *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.*, 18, pp. 185-193. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313x.1999.00438.x>
18. Mattioli, R., Francioso, A. & Trovato, M. (2022). Proline affects flowering time in *Arabidopsis* by modulating FLC expression: A clue of epigenetic regulation? *Plants*, 11, 2348. <https://doi.org/10.3390/plants11182348>
19. Funck, D., Winter, G., Baumgarten, L. & Forlani, G. (2012). Requirement of proline synthesis during *Arabidopsis* reproductive development. *BMC Plant Biol.*, 12, pp. 1-12. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-12-191>
20. Bauduin, S., Latini, M., Belleggia, I., Migliore, M., Biancucci, M., Mattioli, R., Francioso, A., Mosca, L., Funck, D. & Trovato, M. (2022). Interplay between proline metabolism and ROS in the fine tuning of root-meristem size in *Arabidopsis*. *Plants*, 11, 1512. <https://doi.org/10.3390/plants11111512>
21. Biancucci, M., Mattioli, R., Moubayidin, L., Sabatini, S., Costantino, P. & Trovato, M. (2015). Proline affects the size of the root meristematic zone in *Arabidopsis*. *BMC Plant Biol.*, 15, pp. 1-14. <https://doi.org/10.1186/s12870-015-0637-8>
22. Dubrovna, O.V., Priadkina, G.O., Mykhalska, S.I. & Komisarenko, A.G. (2022). Drought-tolerance of transgenic winter wheat with partial suppression of the proline dehydrogenase gene. *Regul. Mech. Biosyst.*, 13, No. 4, pp. 385-392. <https://doi.org/10.15421/022251>

23. Joshi, R., Anwar, K., Das, P., Singla-Pareek, S. & Pareek, A. (2017). Overview of Methods for Assessing Salinity and Drought Tolerance of Transgenic Wheat Lines. *Methods Mol Biol.*, 1679, pp. 83-95. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7337-8_5
24. Renzetti, M., Bertolini, E. & Trovato, M. (2024). Proline Metabolism Genes in Transgenic Plants: Meta-Analysis under Drought and Salt Stress. *Plants*, 13, 1913. <https://doi.org/10.3390/plants13141913>
25. Zadoks, J.C., Chang, T.T. & Konzak, C.F. (1974). A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Research.*, 14, pp. 415-421. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.1974.tb01084.x>
26. Bates, L.S., Waldren, R.P. & Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soils*, 39, pp. 205-207. <https://doi.org/10.1007/BF00018060>
27. Wellburn, A.P. (1994). The spectral determination of chlorophyll a and b, as well as carotenoids using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *J. Plant Physiol.*, 144, No. 3, pp. 307-313. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)81192-2](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81192-2)
28. <https://cgo-sreznevskiy.kyiv.ua/uk/diialnist/klimatolohichna/klimatychni-dani-po-kyievu>
29. Pekal, A. & Pyrzynska, K. (2014). Evaluation of Aluminium Complexation Reaction for Flavonoid Content Assay. *Food Analyt. Methods*, 7, No. 9, pp. 1776-1782. <https://doi.org/10.1007/S12161-014-9814-X>
30. Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT — Food Sci. Technol.*, 28, No. 1, pp. 25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
31. Nawaz, H., Labar, N., Yasmeen, A., Rehmani, M.I.A., Nasrullah, H. & Rehmani, M.I.A. (2015). Pictorial Review of Critical Stages at Vegetative and Reproductive Growth in Wheat for Irrigation Water Regimes. *Appl. Sci. Bus. Econ.*, 2, pp. 1-7.
32. Eser, C., Soylu, S. & Ozkan, H. (2024). Drought responses of traditional and modern wheats in different phenological stages. *Field Crops Res.*, 305, 109201. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2023.109201>
33. Stasyk, O.O., Kiriziy, D.A., Pryadkina, G.O., Sokolovska-Sergienko, O.G., Shevchenko, V.V., Bondarenko, O.Yu. & Makharynska, N.M. (2025). Drought resistance of the photosynthetic apparatus and productivity of winter wheat. *Interservice* [in Ukrainian].
34. Kaur, G., Asthir, B. & Bains, N. (2018). Modulation of proline metabolism under drought and salt stress conditions in wheat seedlings. *Indian J. Biochem. Biophys.*, 55, pp. 114-124. <http://nopr.niscpr.res.in/handle/123456789/44345>
35. Alvarez, M.E., Savoure, A. & Szabados, L. (2022). Proline metabolism as regulatory hub. *Trends in Plant Sci.*, 27, No. 1, pp. 39-55. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2021.07.009>
36. Souahi, H. (2021). Impact of lead on the amount of chlorophyll and carotenoids in the leaves of *Triticum durum* and *T. aestivum*, *Hordeum vulgare* and *Avena sativa*. *Biosyst. Divers.*, 29, No. 3, pp. 207-210. <https://doi.org/10.15421/012125>
37. Demmig-Adams, B. & Adams W.W. (1996). The role of xanthophyll cycle carotenoids in the protection of photosynthesis. *Trends Plant Sci.*, 1, No. 1, pp. 21-26. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(96\)80019-7](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(96)80019-7)
38. Dall'Osto, L., Bassi, R. & Ruban, A. (2014). Photoprotective mechanisms: Carotenoids. In S.M. Theg & F.A. Wollman (Eds). *Plastid Biology* (pp. 393-435). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1136-3_15
39. Sun, T., Rao, S., Zhou, X. & Li, L. (2022). Plant carotenoids: recent advances and future perspectives. *Mol Hort.*, 2, No. 1, 3. <https://doi.org/10.1186/s43897-022-00023-2>
40. Rao, S., O'Hanna, F.J., Saar, L., Hazra, A., Hullihen, O., Giovannoni, J.J. & Li, L. (2024). β -Carotene and its derivatives regulate pollen fertility in tomato. *Plant Physiol.*, 196, No. 3, pp. 1733-1736. <https://doi.org/10.1093/plphys/kiae442>
41. Ruiz-Sola, M.A. & Rodriguez-Concepcion, M. (2012). Carotenoid biosynthesis in *Arabidopsis*: A colorful pathway. *Arab. Book Am. Soc. Plant Biol.*, 10. e0158.
42. Bekka, S., Abrous-Belbachir, O. & Djebbar, R. (2018). Effects of exogenous proline on the physiological characteristics of *Triticum aestivum* L. and *Lens culinaris* Medik. under drought stress. *Acta Agric. Slov.*, 111, No. 2, pp. 477-491. <https://doi.org/10.14720/aas.2018.111.2.20>
43. Sharma, V., Kumar, A., Chaudhary, A., Mishra, A., Rawat, S., Basavaraj, Y.B., Shami, V. & Kaushik, P. (2022). Response of wheat genotypes to drought stress stimulated by PEG. *Stresses*, 2, No. 1, pp. 26-51. <https://doi.org/10.3390/stresses2010003>

44. Song, M., Xu, W.J., Peng, X.Y. & Kong, F.H. (2013). Effects of exogenous proline on the growth of wheat seedlings under cadmium stress. *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao*, 24, No. 1, pp. 129-134. PMID: 23718000
45. Asenstorfer, R.E., Wang, Y. & Mares, D.J. (2006). Chemical structure of flavonoid compounds in wheat (*Triticum aestivum* L.) flour that contribute to the yellow colour of Asian alkaline noodles. *J. Cereal Sci.*, 43, No. 1, pp. 108-119. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2005.09.001>
46. Zendehbad, S.H., Mehran, M.J. & Malla, S. (2014). Flavonoids and phenolic content in wheat grass plant (*Triticum aestivum*). *Asian J. Pharm. Clin. Res.*, 7, No. 4, pp. 184-187.
47. Marrelli, M., Sprovieri, P., Conforti, F. & Statti, G. (2021). Phytochemical content and antioxidant activity of ancient Majorca and Carosella (*Triticum aestivum* L.) wheat flours. *Agronomy*, 11, No. 6, 1217. <https://doi.org/10.3390/agronomy11061217>
48. Rybalka, O.I., Morgun, V.V. & Morgun, B.V. (2020). Colored grain of wheat and barley — a new breeding strategy of crops with grain of high nutritional value. *Fiziol. rast. genet.*, 57, No. 3, pp. 187-222 [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.15407/frg2020.02.095>
49. Shen, N., Wang, T., Gan, Q., Liu, S., Wang, L. & Jin, B. (2022). Plant flavonoids: Classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity. *Food Chem.*, 383, 132531. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132531>
50. Patil, J.R., Mhatre, K.J., Yadav, K., Yadav, L.S., Srivastava, S., & Nikalje, G.C. (2024). Flavonoids in plant-environment interactions and stress responses. *Discover Plants*, 1, 68. <https://doi.org/10.1007/s44372-024-00063-6>
51. Dias, M.C., Pinto, D.C.G.A. & Silva, A.M.S. (2021). Plant flavonoids: Chemical characteristics and biological activity. *Molecules*, 26, No. 17, 5377. <https://doi.org/10.3390/molecules26175377>
52. Mankowska, D. & Dems-Rudnicka, K. (2025). Antioxidant activity and phenolic compounds in medicinal plants: A comparison of organic and conventional *Mentha piperita*, *Melissa officinalis*, *Salvia officinalis*, and *Urtica dioica*. *Molecules*, 30, No. 24, 4812. <https://doi.org/10.3390/molecules30244812>
53. Lemanowicz, J., Gawlinska, K., Jaskulska, I., Jaskulski, D. & Sar, M. (2026). Flavonoids in plants and human health: From biosynthesis to neurodevelopmental and neurodegenerative disorders. *Molecules*, 31, No. 1, 66. <https://doi.org/10.3390/molecules31010066>
54. Mufliah, Y.M., Gollavelli, G. & Ling, Y.-C. (2021). Correlation study of antioxidant activity with phenolic and flavonoid compounds in 12 Indonesian indigenous herbs. *Antioxidants*, 10, No. 10, 1530. <https://doi.org/10.3390/antiox10101530>
55. Matvieieva, N., Duplij, V., Bohdanovych, T. & Horcinova-Sedlackova, V. (2024). Growth characteristics, flavonoid content and bioactivity of *Artemisia annua*, *A. tilesii*, *A. ludoviciana*. *Fiziol. rast. genet.*, 56, No. 3, pp. 254-265 [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.15407/frg2024.03.254>
56. Sandetska, N.V. & Dubrovna, O.V. (2025). Current state of research of wheat grain quality. *Fiziol. rost. genet.*, 57, No. 3, pp. 187-222 [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.15407/frg2025.03.187>

Отримано 05.05.2026. Схвалено до друку 26.05.2026. Опубліковано 16.06.2026

PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL FEATURES OF TRANSGENIC WHEAT PLANTS WITH PARTIAL SUPPRESSION OF THE PROLINE DEHYDROGENASE GENE UNDER NATURAL GROWING CONDITIONS

*O.V. Dubrovna*¹, *G.O. Priadkina*¹, *N.A. Matvieieva*², *V.P. Duplij*², *Y.I. Ratushnyak*², *L.V. Slivka*¹

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

²Institute of Cell Biology and Genetic Engineering, National Academy of Sciences of Ukraine

148 Akademika Zabolotnoho St., 03143 Kyiv, Ukraine

E-mail: dubrovny@ukr.net

Wheat is one of the most strategically important cereals, which is significantly negatively affected by drought at all stages of crop development — starting from the moment of germination and ending with the grain filling stage. It is possible to increase significantly the tolerance to water deficit of this leading agricultural crop by using genetic engineering methods. Partial suppression of the expression of the proline dehydrogenase gene (*ProDH*) can lead to an increase in the content of free L-proline and, as a result, the level of resistance of wheat plants to water deficit. Since genetic transformation may cause changes in the metabolism of modified plants, the aim of the work was to perform a comparative analysis of the physiological and biochemical characteristics of transgenic winter bread wheat plants with partial suppression of the *ProDH*, and their original genotypes under normal growing conditions. It was shown that the content of free proline in the flag leaves of plants of transgenic lines was 1.7—1.8 times higher than that of the original genotype, and changed at different ontogenetic stages. Analysis of changes in the content of free proline showed that the effect of transformation was more significant than that of ontogenetic stage. No significant differences were found between transgenic and non-transformed plants in terms of such indices as the total chlorophyll (*a+b*) and total carotenoids content, the ratio of the total carotenoids to total chlorophyll content at different development stages; the amount of flavonoids and antioxidant activity; components of the grain productivity. At the same time, in terms of protein content, transgenic lines significantly exceeded the original genotypes — the protein content increased by 2.1—2.5 % (direct), gluten — by 4.6—5.7 % (direct).

Key words: *Triticum aestivum* L., transgenic plants, proline content, photosynthetic pigments, flavonoids, antioxidant activity, grain quality, grain yield.

ORCID

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

Г.О. ПРЯДКІНА — G. O. Priadkina <https://orcid.org/0000-0002-4548-1747>

Н.А. МАТВЄЄВА — N.A. Matvieieva <https://orcid.org/0000-0002-4877-5222>

В.П. ДУПЛІЙ — V.P. Duplij <https://orcid.org/0000-0002-7479-7257>

Я.І. РАТУШНЯК — Y.I. Ratushnyak <https://orcid.org/0000-0003-3708-1898>

Л.В. СЛИВКА — L.V. Slivka <https://orcid.org/0000-0001-6133-4395>