

ГЕНЕТИЧНА МОДИФІКАЦІЯ ПШЕНИЦІ ДЛЯ ПІДВИЩЕННЯ ЇЇ ТОЛЕРАНТНОСТІ ДО ПОСУХИ

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

Інститут фізіології рослин і генетики НАН України,
вул. Васильківська 31/17, Київ, 03022, Україна

E-mail: dubrovny@ukr.net, mykhalskasvitlana@gmail.com, allakomisarenko2017@gmail.com

Автор для кореспонденції – О.В. Дубровна, E-mail: dubrovny@ukr.net

Пшениця є стратегічною сільськогосподарською культурою в світі та відіграє провідну роль у харчовому забезпеченні людства. Незважаючи на загалом зростаючу тенденцію її виробництва, глобальні кліматичні зміни та пов'язане з ними збільшення кількості ґрунтових та повітряних посух протягом вегетації рослин вимагають розробки нових стратегій в адаптації пшениці до цього абіотичного стресового чинника, дія якого спричиняє зниження врожайності. Генетична інженерія надала можливість підвищити ефективність створення нових посухостійких генотипів пшениці, а її застосування стало значним доповненням до традиційної селекції даної культури. Останнім часом було досягнуто певного прогресу у визначенні основних регуляторів посухостійкості пшениці та ідентифіковано нові гени, які забезпечують стійкість та покращують ріст і виживання рослин. У представленому огляді літератури наведено приклади успішного застосування генетичної інженерії для вдосконалення адаптації пшениці до посухи. Розглянуто гени, що беруть участь у біосинтезі осмолітів, білків і ферментів, які функціонують як знешкоджувачі активних форм кисню, молекулярних шаперонів і транспортерів іонів, а також регуляторні гени факторів транскрипції і протеїнкаїназ та використовуються для підвищення посухостійкості пшениці. Узагальнено відомості про фізіолого-біохімічні характеристики генетично модифікованих рослин з різноманітними вбудованими генами за тестування їхньої толерантності до водного дефіциту в контрольованих або польових умовах. Наведено результати редагування геному пшениці для покращення її посухостійкості.

Ключові слова: пшениця, посуха, генетична модифікація

ція, трансгенні рослини, функціональні та регуляторні гени, редагування геному.

Вступ

Пшениця (*Triticum aestivum* L., AABBDD, $2n = 42$) є однією з основних продовольчих культур світу, яка вирощується на більш ніж 17 % орних земель і споживається приблизно однією третиною населення світу (Erenstein et al., 2022). Зерно даної культури добре зберігається і відносно легко переробляється на харчові та кормові продукти, забезпечує більш ніж 20 % від загальної калорійності раціону людини (Shiferaw et al., 2013). Незважаючи на загалом зростаючу тенденцію виробництва пшениці, кліматичні зміни, що призводять до значних температурних перепадів, непередбачуваних опадів або посух та появи нових патогенів і шкідників значно позначаються на її врожайності (Nowsherwan et al., 2018). За останні роки негативний вплив стресових чинників на виробництво пшениці зростає із загрозливою швидкістю, прогнозується і подальше погіршення умов вирощування через деградацію ґрунтів та зменшення водопостачання (Hossain et al., 2021). Підвищення продуктивності пшениці без збільшення площі оброблених земель може бути досягнуто шляхом поліпшення її толерантності до абіотичних стресів.

Посуха – головний несприятливий чинник доквілля, дія якого завдає найбільшої шкоди посівам пшениці. Гальмування процесів фотосинтезу і порушення репродуктивного розвитку за умов посухи спричиняють значні

втрата її зернової продуктивності, які можуть складати від 25 до 70 % — залежно від фази розвитку рослин, жорсткості і тривалості дії стресу (Bapela et al., 2022). Для України ця проблема набуває особливої актуальності, оскільки майже всі посівні площі знаходяться в зоні ризикованого землеробства, де є постійна загроза втрати врожаю у посушливі роки (Ivanyuta et al., 2020). За останні 20 років частота посух на території країни зросла майже вдвічі, що призводить до зниження врожайності пшениці на 10–20 % у посушливі роки. Існує висока ймовірність, що глобальне потепління призведе до погіршення кліматичних умов на 2 млн га земель вже через 10 років (Ivanyuta et al., 2020).

Генетичне вдосконалення посухостійкості є критично важливим у селекції пшениці. Використання методів біотехнології, і зокрема, генетичної інженерії, є одним із перспективних напрямів, які дають можливість підвищити ефективність створення нових генотипів пшениці, стійких до посухи (Khan et al., 2019; El-Mouhamady et al., 2023). Останнім часом було досягнуто певного прогресу у визначенні основних регуляторів посухостійкості даної культури (Adel and Carels, 2023) та різними методами трансформації створені трансгенні рослини зі зміненою експресією генів, відповідальних за посухостійкість. Шляхом редагування геному були внесені цільові модифікації в ендегенні гени та отримані лінії з відредагованими генами, вільні від чужорідних генетичних елементів, які ідентичні їх нетрансформованим аналогам (Awan et al., 2022; Nigro et al., 2024). У представленому огляді літератури наведено широкий спектр стрес-пов'язаних генів, які протягом останніх років були успішно використані в генетичній інженерії пшениці для поліпшення її толерантності до посухи, а також узагальнено відомості про фізіолого-біохімічні характеристики трансгенних рослин.

Механізми стійкості рослин до посухи

У рослин існують різні механізми адаптації до посухи, включаючи уникнення періоду посухи, уникнення водного стресу та толерантність до посухи (Yang and Qin, 2023). Уникнення періоду посухи це адаптивна властивість, яка дозволяє рослинам рости та завер-

шувати свій життєвий цикл раніше її початку (Shamuyarira et al., 2019). Механізм уникнення водного стресу пов'язаний з мінімізацією втрати води рослинами при максимальному збільшенні її поглинання з ґрунту, головним чином шляхом регулювання руху прорихів, коригування структури листя та оптимізації структури кореня (Bapela et al., 2022). Рослини виробили механізми толерантності шляхом накопичення осмопротекторів, збільшення продукції антиоксидантних ферментів, перемикавання регуляторних шляхів фітогормонів та/або експресії молекулярних шаперонів, що беруть участь у клітинному гомеостазі (Tardieu, 2018). Процеси реагування рослин на стрес від посухи включають сприйняття, передачу та посилення сигналу, а також адаптацію на морфологічному, фізіологічному, біохімічному та молекулярному рівнях. У цих процесах багато факторів транскрипції (ТФ), протеїнкази та пов'язані зі стресом різноманітні білки функціонують для посилення посухостійкості шляхом затримки росту, зменшення транспірації, осмотичної корекції та видалення активних форм кисню (АФК) (Karoo et al., 2020). Механізми, залучені до реакції рослин на посуху, представлені на рис. 1 (<https://cytgen.com/articles/5930060s.pdf> 1).

Гени, які беруть участь у відповідях на стрес від посухи

Каскад передачі сигналів стресу охоплює велику кількість генів, що реагують на стрес, які можна класифікувати на дві основні групи на основі їх функцій (Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2007). Перша група включає функціональні (ефекторні) гени, що кодують ферменти, пов'язані з біосинтезом осмолітів, білки LEA, аквапорини, шаперони та ферменти детоксикації, що захищають цілісність клітинної мембрани, контролюють баланс іонів і поглинання АФК (Liang, 2016). Друга група складається з регуляторних генів, таких як фактори транскрипції, протеїнкази, протеїнофосфатази та протеїнази, які беруть участь у сигнальних каскадах і транскрипційній або посттранскрипційній регуляції експресії генів (Reguera et al., 2012). Генетична маніпуляція регуляторними генами вважається більш потужним підходом для підвищення стресостійкості рослин

у порівнянні з функціональними генами, що реагують на стрес (Ahmed et al., 2020).

Поліпшення посухостійкості пшениці за допомогою генетичної модифікації вимагає ідентифікації та перевірки генів-кандидатів, відповідальних за контроль ознаки. Дослідження на модельних рослинах сприяли ідентифікації генів-кандидатів, що лежать в основі толерантності до посухи. Ортологи деяких із них були виявлені у пшениці (Trono and Recchioni, 2022). Численні гени, які були виділені з різних організмів та вбудовані в трансгенну пшеницю для підвищення її посухостійкості, можна розділити на дві групи (Khan et al., 2019). Перша група — це гени, які беруть участь у захисті клітин, включаючи осмопротектори, стабілізації мембран, детоксикації і транспортні білки. Гени другої групи — це фактори транскрипції та сигнальні молекули. Узагальнені практичні результати трансформації пшениці різними генами для підвищення її посухостійкості представлені у таблиці (<https://cytgen.com/articles/5930060s.pdf> 1).

Осмопротектори

Для підвищення посухостійкості пшениці досить часто залучаються гени, що контролюють метаболізм «сумісних» осмотично активних речовин — органічних молекул, здатних у значних концентраціях акумулюватися в клітинах рослин за умов стресу, і не чинити токсичної дії на процеси їх росту і диференціації. Накопичення цих молекул допомагає рослинам утримувати воду в клітинах і захищає органели від ушкоджень, спричинених зневодненням або підтримує тургорний тиск за водного стресу. Підвищення толерантності обумовлено осмотичним регулюванням та шапероноподібною активністю у стабілізації мембран та білків і детоксикацією шляхом поглинання АФК (Jogawat, 2019).

Пролін

Одним із найбільш перспективних підходів створення посухостійких генотипів пшениці є використання генів, що контролюють синтез та катаболізм проліну (Pro) (Dubrovna et al., 2022b). Крім добре відомої функції як інертного сумісного осмоліту, за дії стресорів він виконує цілу низку інших взаємопов'язаних функцій:

мембранопротекторну, шаперонну, антиоксидантну, а також бере участь у регуляції експресії деяких генів, є джерелом енергії, депо азоту та вуглецю (Ghosh et al., 2022). Ключовими ферментами синтезу Pro є дельта-1-пірролін-5-карбоксилатсинтетаза (P5CS) та орнітин-δ-амінотрансфераза (OAT), а катаболізму — проліндегідрогеназа (ProDH). Для підвищення рівня накопичення Pro застосовуються дві основні стратегії: 1 — додаткове введення копій кДНК, відповідальних за його синтез (P5CS або OAT); 2 — часткова супресія ендегенних генів катаболізму проліну ProDH, які контролюють перший етап його гідролізу (Dubrovna et al., 2022b).

Трансгенні рослини пшениці з надекспресією гена P5CS вігні акумулювали більше Pro та витримували 15 діб нестачі води на стадії виходу в трубку (Vendruscolo et al., 2007). Вони мали 50 % клітин з непошкодженою мембраною, в той час як у контрольних їх було 13 %. Стійкість до дефіциту води модифікованих рослин була зумовлена механізмами захисту від окиснювального стресу, що виявлялося меншим вмістом малонового діальдегіду (МД). Бразильські вчені (Pavei et al., 2016) оцінили сім трансгенних ліній насіннєвого покоління T2 з надекспресією гена P5CS вігні і встановили, що вони накопичували в 1,85 раза більше Pro через 8 днів водного стресу, ніж нетрансгенні. Однак, вміст МД у них не знижувався, що вказувало на те, що захист клітинної мембрани від окиснювального стресу не підвищувався. Інші дослідники (De Lima et al., 2019) оцінили 5 трансгенних ліній пшениці покоління T3 з надекспресією гена P5CS вігні за 16-денного повного обмеження води на стадії цвітіння. Модифіковані рослини показали вищі рівні Pro на 16-й день, нижчий рівень МД та не відрізнялися від контрольних за продуктивністю.

Орнітин-δ-амінотрансфераза (OAT) є піридоксаль-5-фосфатзалежним ферментом, який бере участь у біосинтезі Pro у рослин. Потенційно, OAT може бути важливим регулятором клітинного метаболізму, оскільки реакція, що каталізується цим ферментом, пов'язує кілька біохімічних систем: цикл сечовини, цикл накопичення і деградації Pro та шлях біосинтезу поліамінів (Anwar et al., 2021).

Трансгенні рослини пшениці покоління T2 з надеспресією гена *OAT* арабідопсису показали підвищену толерантність до водного дефіциту та засолення за рахунок збільшення накопичення Pro і регуляції антиоксидантної системи (Anwar et al., 2021). У цих рослин також виявили активацію глутаматного шляху біосинтезу Pro за дії водного і сольового стресів та підвищену експресію генів *TaP5CS1* та *TaP5CR1*. У трансгенних рослин пшениці T1-T3 з додатковою копією гена *OAT* люцерни виявлено підвищену толерантність до дії ґрунтової посухи (Komisarenko et al., 2019; Dubrovna et al., 2021), однак це не було пов'язано з накопиченням Pro. Ці дані підтверджують гіпотезу про те, що *OAT* безпосередньо не впливає на накопичення Pro, викликане стресом (Funck et al., 2008). За умов недостатнього водозабезпечення трансгенні лінії перевищували контроль за масою та довжиною коренів, кількістю продуктивних стебел, вмістом хлорофілу та показниками продуктивності (Dubrovna et al., 2021). Збільшення біомаси *MtOAT*-рослин за дії посухи може бути пов'язане з накопиченням орнітину, який є проміжною сполукою у біосинтезі аргініну, де шлях розходиться з утворенням Pro та поліамінів, які залучені у дуже багато функцій рослин, у тому числі пов'язаних з адаптацією до дії стрес-факторів (Kolupaev and Kokorev, 2019).

РНК-інтерференція гена проліндегідрогенази у трансгенних рослин T1-T3 озимої та ярої пшениці, що несуть дволанцюговий РНК-супресор гена *ProDH* арабідопсису, приводила до збільшення рівня накопичення Pro у 2,6–4,1 раза та підвищення їх толерантності до дії ґрунтової посухи (Dubrovna et al., 2020, 2022a; Komisarenko et al., 2020; Mykhalska et al., 2021). Трансгенні рослини за показниками структури зернової продуктивності перевищували відповідні значення нетрансформованих рослин та характеризувалися більшою активністю антиоксидантних ферментів (супероксиддисмутази та аскорбатпероксидази) (Dubrovna et al., 2020).

Гліцин бетаїн

Гліцин бетаїн (ГБ) є четвертинною амонієвою сполукою, яка синтезується шляхом двостадійного окиснення холіну, та накопичується

переважно в хлоропластах у відповідь на абіотичні стреси. Ця молекула сприяє не тільки осмотичній перебудові, але й стабілізації структури складних білків, таких як комплекс фотосистеми II, що виділяє кисень, і Rubisco для підтримання фотосинтетичної активності (Annunziata et al., 2019). Рослини пшениці природним чином накопичують ГБ, але його рівень занадто низький для підтримки осмотичного балансу під час посухи (Giri, 2011). Для підвищення вмісту ГБ рослини пшениці були трансформовані генами, які кодують ферменти бетаїн альдегіддегідрогеназу (*BADH*) та холіндегідрогеназу (*betaA*) (Wang et al., 2010a, 2010b; He et al., 2011).

Трансгенні рослини покоління T6 з надеспресією гена *BADH* литуги городньої (*Atriplex hortensis*) були досліджені за дії водного стресу (30 % ПЕГ 6000), теплового стресу (40 °C) та їх комбінації (Wang et al., 2010a). Підвищення вмісту ГБ у цих рослин приводило до посилення фотосинтезу не лише за водного дефіциту або теплового стресу, а й за їх комбінації. У іншому дослідженні цих авторів (Wang et al., 2010b) тіж самі трансгенні рослини за дії посухи (78–82 % відносного вмісту води у прапорцевих листках) збільшили синтез ГБ та підвищили посухостійкість шляхом поліпшення фотосинтезу та покращення системи антиоксидантного захисту. Трансгенні лінії пшениці T3 з різними рівнями експресії гена *betaA* *Escherichia coli* були проаналізовані в умовах посухи (12–14 % відносного вмісту води) (He et al., 2011). Модифіковані рослини були менш пошкоджені, мали вищий вміст ГБ і розчинного цукру, вищий відносний вміст води, активність фотосистеми II та антиоксидантних ферментів, більшу біомасу, краще розвинене коріння. Було зроблено висновок, що ступінь пошкодження рослин пшениці негативно корелює з рівнем накопичення ГБ.

Манітол

Манітол – це цукровий спирт, який при стресі не тільки сприяє осмотичній перебудові, але й бере участь у контролі окиснювально-відновного процесу шляхом видалення гідроксильних радикалів (Bhattacharya and Kundu, 2020). Рослини пшениці природним чином не

накопичують манітол. Пшеницю сорту Bob-white трансформували геном *mtlD* (манітол-1-фосфатдегідрогенази) з *Escherichia coli* (Abebe et al., 2003). Трансгенні рослини покоління Т2 з помірним накопиченням манітолу підвищили толерантність до водного стресу, мали більшу біомасу та довжину прапорцевих листків порівняно з нетрансгенними. Однак у трансформантів спостерігалось зниження висоти рослин та їх стерильність, скручування листя та низький вміст сахарози.

Трегалоза

Трегалоза (α -Д-глюкопіранозил-1,1- α -Д-глюкопіранозид) — нередукуючий дисахарид, що складається з двох молекул глюкози, поєднаних α -1,1-глікозидними зв'язками, яка може зв'язуватись з полярними групами макромолекул, стабілізуючи структуру ліпідних двохшарових мембран, заміщуючи молекули води навколо них та підтримуючи цілісність клітин за умов дегідратації (Yatsyshyn et al., 2017). Синтез трегалози здійснюється великим ферментним комплексом, що складається з трегалозо-6-фосфатсинтази, яка кодується геном *TPS1*, та трегалозо-6-фосфатфосфатази, яка кодується геном *TPS2*. Рослини пшениці були трансформовані генами біосинтезу трегалози *TPS1* та *TPS2* термофільних дріжджів (*Saccharomyces cerevisiae*) (Kvasko et al., 2020). Встановлено, що трансгенні рослини з надекспресією генів *TPS1* та *TPS2* характеризувалися накопиченням трегалози та підвищеною толерантністю до посухи. Вони мали більшу довжину колосу та висоту рослин, а також більшу кількість та масу зерна порівняно з контролем.

Білки холодowego шоку

Білки холодowego шоку (COLD SHOCK PROTEINS, CSP) посилюють акліматизацію бактерій до несприятливих умов довкілля. Гени синтетичних бактеріальних білків холодowego шоку *CspA* і *CspB* були використані для трансформації пшениці з метою підвищення її посухостійкості (Yu et al., 2017). В умовах посухи у трансгенних ліній з надекспресією гена *SeCspA* або *SeCspB* виявлено нижчий вміст МД, нижчу швидкість втрати води, вищий вміст хлорофілу та проліну, посилену експресію стрес-реагуючих генів ніж у кон-

трольних рослин. Польові експерименти показали, що трансгенні лінії *SeCspA* мали значне збільшення маси 1000 зерен і врожайності зерна порівняно з вихідним генотипом в умовах посухи, проте цього не спостерігалось у трансгенних ліній *SeCspB*.

Білки пізнього ембріогенезу (LEA)

Білки LEA (LATE EMBRYOGENESIS ABUNDANT) накопичуються у пізній період розвитку насіння, що супроводжується зневодненням. Вони відіграють важливу роль у реакції рослин на абіотичні стреси, ймовірно, через підтримку структури білків і мембран, зменшення іонів зв'язування води та функціонують як молекулярні шаперони (Artur et al., 2019). *HVA1* (HORDEUM VULGARE ALEURONE1) — це індукований абсцизовою кислотою (АБК) білок, який природним чином накопичується в алеїроновому шарі ячменю при десикації насіння. Він залучений до захисту клітин від дегідратації, підтримки тургорного тиску та стабілізації білків і мембран. Ген *HVA1* був введений у сорт ярої пшениці Hi-Line та отримані трансгенні рослини покоління Т3 (Sivamani et al., 2000). Надекспресія *HVA1* у модифікованих рослинах значно покращила їх толерантність до посухи, про що свідчили вищі значення ефективності використання води та більше накопичення біомаси порівняно з контролем в умовах помірного дефіциту ґрунтової вологості. У подальшому, були проведені польові експерименти для перевірки посухостійкості рослин Т4 впродовж шести сезонів вирощування (Bahieldin et al., 2005). В умовах посухи, на 5–6 рік посіву, деякі лінії мали значно більшу висоту рослин, загальну біомасу та врожайність зерна, ніж контроль. Вищий відносний вміст води спостерігався у ліній з більшою експресією гена *HVA1*. Шість гомозиготних трансгенних ліній пшениці сорту Seher-2006 з надекспресією *HVA1* були створені та протестовані за різних водних режимів (Habib et al., 2022). На ранніх стадіях розвитку в умовах посухового стресу модифіковані лінії показали кращу схожість і розвиток коріння, вищий індекс стабільності мембран та нижчий витік електроліту.

Індійські вчені (Chauhan and Khurana, 2011) створили трансгенні лінії подвійних гаплоїдів

пшениці сорту SPAN1676, які надекспресують ген *HVA1*, та проаналізували рослини насіннєвого покоління T4. Ці лінії характеризувалися більшим відсотком проростання насіння, кращим ростом пагонів та більшим накопиченням біомаси. За умов обмеження води після цвітіння вони мали вищу активність ферменту нітратредуктази та врожайність зерна порівняно з контролем. У подальшому, трансгенні лінії були проаналізовані у T7-T8 поколіннях (Samtani et al., 2022). Модифіковані рослини виявилися стійкими до посухи та теплового стресу, мали більш зелене листя і краще розвинену кореневу систему. Також у них виявлено активацію генів, що реагують на посуху (DREB і NAC факторів транскрипції, дегідринів, феритинів, глутатіон-S-трансферази).

Транспортні білки

Аквапорини — білки, що утворюють канали для транспорту води та низькомолекулярних сполук через мембрани. Зокрема, вони зумовлюють функціонування симпластного шляху транспорту води, що має велике значення під час водного стресу, адже закриття продихів і зменшення інтенсивності транспірації знижують гідралічну провідність рослини (Chaumont and Tyerman, 2014). Вони належать до родини основних внутрішніх білків (MIP), серед яких найбільш представлені білки плазматичної мембрани (PIP). Створені трансгенні рослини твердої пшениці сорту Maali з надекспресією гена *TdPIP2;1* у плазматичній мембрані (Ayadi et al., 2019). *TdPIP2;1*-лінії T3 показали вищі показники проростання насіння і біомаси, а також збереження низької концентрації Na^+ і високої K^+ в пагонах за високого осмотичного стресу. Довготривале дослідження розвитку рослин у тепличних умовах виявило, що *TdPIP2;1*-лінії за дефіциту вологи мали більш виповнене зерно, тоді як у контрольних рослин відмічали різке зниження його маси. Модифіковані лінії мали вищу активність каталази і супероксиддисмутази, менший вміст МД та перекису водню.

Транспортери іонів

Внутрішньоклітинні білки NHX є Na^+ , K^+ / H^+ антипортерами, що беруть участь у гомеос-

тазі K^+ , регуляції рН в ендосомах і толерантності до осмотичних стресів (Barragán et al., 2012). Калій (K^+) є основним осмотиком рослинних клітин, і накопичення цього елемента у вакуолях є особливо важливим для рослин в умовах абіотичних стресів. Він виконує важливі функції, пов'язані з активацією ферментів, осмотичною адаптацією та генерацією тургору, регуляцією електричного потенціалу мембрани та гомеостазом рН цитоплазми. Швидке накопичення або втрата K^+ регулює відкриття та закриття продихів і, таким чином, газообмін і транспірацію (Andrés et al., 2014). Показано, що калій/протонообмінник *TaNHX2* функціонує як позитивний регулятор посухостійкості пшениці, опосередковуючи перехресні зв'язки між продиховою апертурою та накопиченням γ -аміномасляної кислоти (ГАМК) (Li et al., 2024). *TaNHX2* взаємодіє з глутаматдекарбоксилазою TaGAD1, ключовим ферментом, який синтезує ГАМК з глутамату, посилив його активність і сприяв накопиченню ГАМК за стресу від посухи. Трансгенні рослини з надекспресією гена *TaNHX2* мали більший відносний вміст води, масу 1000 зерен, довше та ширше зерно, що обумовило їх перевагу над контролем за врожайністю (Li et al., 2024).

Білки та ферменти — поглиначі активних форм кисню

Поширеним явищем у рослин, які піддаються різним абіотичним стресам, є надмірне виробництво АФК, що в кінцевому підсумку призводить до окиснювального стресу. Ферменти, що належать до надродини тіоредоксинів (TRX), каталізують відновлення дисульфідних зв'язків, що утворюються за окиснювального стресу, відновлення структури і функції білків (Calderón et al., 2018). Нуклеоредоксин (NRX) — білок з молекулярною масою приблизно 12 кДа, належить до надродини TRX. Ген *NRX1* регулює активність каталази, посилює її детоксикаційну здатність і захищає антиоксидантні ферменти від окисного стресу, викликаного АФК (Kneeshaw et al., 2017). Китайські вчені (Zhang et al., 2021) створили трансгенні лінії пшениці з надекспресією гена *TaNRX1*. У порівнянні з контрольними *TaNRX1*-лінії мали більшу біомасу, довжину коренів та водопоглинальну здатність.

Вживаність, вміст хлорофілу, проліну, розчинного цукру, активність фотосинтезу та антиоксидантних ферментів у цих ліній були вищими, ніж у нетрансформованих рослин, а відносна електропровідність та рівні МД, перекису водню та супероксид-аніонів були нижчими.

Члени родини альдо-кеторедуктаз, включаючи альдозоредуктази, беруть участь в антиоксидантному захисті шляхом перетворення широкого спектра цитотоксичних сполук, отриманих перекисним окисненням ліпідів. Угорські вчені (Fehér-Juhász et al., 2014) отримали трансгенні лінії пшениці з надекспресією гена *MsALR* альдозоредуктази люцерни, які показали у 1,5–4,3 рази вищу детоксикаційну активність щодо альдегідного субстрату. За умов посухи накопичення біомаси у трьох трансгенних ліній було на 12–41 % вищим, ніж у нетрансгенних рослин, а дві з них мали більшу масу зерна, ніж контрольні.

У рослинах пероксидази класу III можуть окиснювати фенольні сполуки, тим самим знижуючи рівень H_2O_2 , що робить ці ферменти ефективними компонентами антиоксидантної системи. Показано (Su et al., 2023), що надекспресія гена *TaPRX-2A* у трансгенних рослин пшениці покращує їх стійкість до водного дефіциту через підтримання підвищеної активності антиоксидантів і зниження вмісту АФК. Три *TaPRX-2A*-лінії показали більший відсоток виживання (65–69 %), ніж нетрансформовані рослини (38,7 %), мали довші пагони та вищий відносний вміст води.

Феритини — це білки, що запасують залізо, і вивільняють його, коли це необхідно. Надекспресія гена феритину *TaFER-5B* у трансгенних рослин пшениці сорту Jimai5265 підвищила їх стійкість до посухи, окиснення та надлишку заліза, пов'язаного з видаленням АФК (Zang et al., 2017). За водного дефіциту вони мали підвищений вміст заліза в листі, більшу довжину кореня, зниження пошкодження мембран і кращу фотосинтетичну активність порівняно з контролем. Ймовірно, це пов'язано зі здатністю феритину перетворювати токсичний Fe^{2+} на нетоксичний хелатний комплекс, забезпечуючи таким чином захист клітин проти окиснювального стресу.

Білки клітинної стінки

Експансини — це білки клітинної стінки, які згруповані у дві основні родини, α -експансини та β -експансини, і беруть участь у модифікації клітинної стінки через розрив водневих зв'язків між целюлозою та матриксними глюканами (Sampedro and Cosgrove, 2005). Трансгенні рослини пшениці з надекспресією гена α -експансину *TaEXPA2* мали підвищену толерантність до посухи порівняно з контрольними (Yang et al., 2020a). Вони характеризувалися вищим рівнем виживання, більшою швидкістю фотосинтезу та здатністю утримувати воду в умовах посухового стресу. Також у них виявлено підвищення активності антиоксидантних ферментів та збільшення транскриптів генів, пов'язаних із ферментами, що поглинають АФК. Подальші дослідження показали, що *TaEXPA2* позитивно вплинув на формування бічних коренів за умов посухи.

Метаболізм вуглецю

Гени, що кодуєть ферменти фотосинтезу C_4 , сприяють ефективному використанню ресурсів вуглецю і підтримують енергетичний баланс клітин за стресових умов. Трансформація пшениці геном кукурудзи, що кодує фермент фосфоенолпіруваткарбоксилазу (PEPC) і контролює первинну фіксацію CO_2 у C_4 рослин, підвищила її толерантність до посухи (Qin et al., 2016). Поліпшення стійкості було пов'язане з вищим вмістом проліну, розчинних цукрів та ефективнішим використанням води. Ці трансгенні лінії мали більш розгалужене коріння та збільшену фотосинтетичну здатність. Порівняно з контролем у них виявлено вищий вміст білків, пов'язаних з фотосинтезом і структурною стабільністю пластид, більш високу активність ферментів, які беруть участь в обміні амінокислот. Підвищенню їх врожайності в умовах посухи сприяло накопичення біомаси, більша кількість колосків та маси 1000 зерен. Китайські дослідники (Zhang et al., 2014) створили трансгенні лінії пшениці з генами кукурудзи *PEPC* (лінії PC) та *PPDK* (кодує піруваттортофосфатдікіназу) (лінії PK), а також рослини, які одночасно несуть обидва гени (PKC лінії). Автори показали, що актив-

ність ферментів *PEPC* і *PPDK* в лініях РКС була в 4,3 і 2,1 раза відповідно вищою, ніж у контролі. Максимальна добова чиста продуктивність фотосинтезу у ліній РКС, РС і РК була підвищена на 26,4, 13,3 і 4,5 % відповідно, тоді як добове накопичення продуктів фотосинтезу було на 21,3, 13,9 і 6,9 % відповідно вищим, ніж у нетрансформованих рослин. Показано, що ген *PEPC* був більш ефективним у покращенні фотосинтетичної продуктивності та характеристик урожайності трансгенної пшениці в умовах посухи ніж *PPDK*, тоді як два гени виявили синергетичний ефект.

Метаболізм гормонів

Фітогормони є тригерами сигнальних шляхів, а також ініціюють каскад реакцій, які допомагають рослині адаптуватись до стресових впливів. Отримані трансгенні рослини пшениці з геном ізопентенілтрансферази (*IPT*) *Agrobacterium tumefaciens*, який бере участь у синтезі цитокініну (Veznes et al., 2021). Гетерологічна експресія гена *IPT*, під контролем промотора рецептороподібної кінази (*SARK*), затримує старіння клітин і, таким чином, підвищує стійкість трансгенних рослин до посухи. Вони показали більш високу врожайність порівняно з контролем як в теплиці, так і польових умовах, що позитивно корелювало з кількістю зерна (більше колосків і зерна на колос). Цікаво, що ця перевага врожайності трансгенних ліній спостерігалася як в умовах посухи, так і в умовах достатнього поливу.

Врожайність зерна за умов посухи може бути покращена шляхом пригнічення експресії цитокініноксидази/дегідрогенази (*CKX*), яка контролює деградацію цитокініну, що приводить до збільшення числа репродуктивних органів через накопичення цитокініну (Sharif et al., 2022). Наприклад, у трансгенної пшениці T2 зниження експресії гена *TaCKX2-D1* значно збільшило кількість зерна в колосі (Zhang et al., 2019).

Білки-рецептори

Рецептори відіграють важливу роль у сприйнятті зовнішніх сигналів і запуску внутрішніх сигнальних каскадів, що допомагають рослинам адаптуватися до стресових умов. Дослідження останніх десятиліть виявили, що абс-

цизова кислота (АБК) є центральним регулятором використання води та безпосередньо регулює відкриття продихів і транспірацію (Munemasa et al., 2015). Білок *PYL* (*Pyrabatin Resistance 1-Like*) є рецепторним білком АБК та важливим компонентом її основного сигнального шляху *PYLs-PP2Cs-SnRK2*. Показано, що надекспресія рецептора АБК пшениці *TaPYL4* підвищує її чутливість до цього фітогормону, що значно знижує споживання води рослиною протягом життя (Mega et al., 2019). Зменшення використання води є наслідком зниження транспірації та супутнього збільшення фотосинтетичної активності, що разом підвищує продуктивність під час дефіциту води. Трансгенні рослини пшениці з надекспресією гена *TaPYL4* характеризувалися меншим продиховим отвором, меншою втратою води та більшою врожайністю зерна (Mega et al., 2019).

При регуляції відповіді на посуху у сигнальному шляху АБК важливими є корецептори абсцизової кислоти *PP2C* класу А. Китайські дослідники (Wang et al., 2023) ідентифікували ген в'янення 1 (*DIW1*), який активується посухою та ген *TaPP2C158*, пов'язаний з посиленою активністю протеїнфосфатази, які є негативними регуляторами посухостійкості пшениці. Тому генетична модифікація цих генів може позитивно вплинути на її стійкість до водного дефіциту.

Фактори транскрипції

ТФ широко використовуються в генетичній інженерії рослин, оскільки їх експресія може приводити до посилення або зниження регуляції генів під їх контролем шляхом специфічного зв'язування з енансером або цис-діючими елементами в промоторній області генів-мішеней. На сьогодні встановлено, що такі родини як *AP2/ERF*, *bZIP*, *WRKY*, *MYB*, *NAC*, *NAM* задіяні у відповідях рослин пшениці на стрес від посухи шляхом контролю експресії пов'язаних зі стресом генів (Baillo et al., 2019). Гени, що реагують на посуху, можна розділити на дві категорії залежно від відповіді на АБК: АБК-залежні та АБК-незалежні (Wu et al., 2022). Незважаючи на те, що численні гени, що реагують на посуху, задіяні в сигнальній системі АБК, більшість генів, індукованих посухою, не реагують на обробку цим гормоном, що вка-

зує на наявність АБК-незалежних шляхів відповіді на водний дефіцит (Hussain et al., 2021). ТФ, які функціонують у реакціях відповіді рослин на посуху в АБК-залежних і АБК-незалежних шляхах, та були використані для генетичної модифікації пшениці, представлені на рис. 2 (<https://cytgen.com/articles/5930060s.pdf> 1).

Родина AP2/ERF

APETALA2 (AP2)/ETHYLENE RESPONSIVE FACTOR (ERF) (AP2/ERF) — велика родина ТФ, специфічних для рослин, які мають спільний добре збережений ДНК-зв'язуючий домен і включає значну кількість чутливих до стресу регуляторних генів. У генетичній інженерії пшениці на даний час використовуються ТФ підродин DREB/CBF та ERF.

Підродина DREB/CBF

DEHYDRATION RESPONSIVE ELEMENT BINDING PROTEINS)/C-REPEAT BINDING FACTOR (CBF) є універсальними ТФ для контролю відповідей на основні абіотичні стреси. DRE-зв'язувальні білки (DREB) активують експресію абіотичних стрес-реагуючих генів через специфічне зв'язування з цис-діючими елементами, такими як *DRE/CRT*, *LTR*, *ABRE*, *MYBS*, у їх промоторах (Wang et al., 2021). Гени DREB беруть участь у багатьох шляхах передачі сигналу рослинних гормонів для захисту від абіотичних стресів. Їх функціонування зазвичай не пов'язане зі шляхами передачі сигналів за участі АБК.

Трансгенні рослини пшениці з геном *AtDREB1A* арабідопсису були протестовані в умовах теплиці (Pellegrineschi et al., 2004) та показали більшу стійкість до водного стресу порівняно з контрольними, що проявлялося уповільненням в'янення, більш розгалуженою кореневою системою, вищою загальною кількістю колосків. В умовах посухи, після припинення поливу на 15 днів, модифіковані *AtDREB1A*-лінії покоління T2 характеризувалися більш ніж удвічі вищим вмістом проліну порівняно з контролем, їхнє листя залишалося зеленим, в той час, як у нетрансформованих рослин листки жовтіли і поступово зів'яли (Wang et al., 2006). У подальшому, 14 трансгенних *AtDREB1A*-ліній пшениці сорту Bobwhite були протестовані у польових умовах (Saint Pierre et al., 2012)

та показали підвищену виживаність, швидкість та ефективність використання води. Встановлено, що більш висока посухостійкість трансгенних рослин з надекспресією гена *AtDREB1A* досягається шляхом збільшення відносного вмісту води, хлорофілу, цукру та проліну порівняно з контролем (Noor et al., 2018).

Створена трансгенна пшениця сорту Lamsani-08 з надекспресією гена *DREB1A* та проаналізована її посухостійкість у поколінні T2 (Mehmood et al., 2020). Модифіковані рослини мали підвищену частоту та швидкість проростання, більшу довжину пагона, кореня та колеоптіля, вищий відносний вміст води, вміст проліну та загального хлорофілу, а також збільшену врожайність відносно контрольних рослин. Отримані трансгенні рослини пшениці з надекспресією генів *TaDREB2* і *TaDREB3*, виділених із її зерна (Morran et al., 2011). Ці рослини показали кращу виживаність в умовах сильної посухи, проте мали уповільнене зростання, затримку цвітіння та нижчу врожайність порівняно з нетрансгенними. Потомство однієї трансгенної лінії T2 з надекспресією гена *TaDREB3* використовувалося як запилювач у схрещуванні з чотирма австралійськими елітними сортами пшениці з метою оцінки ефективності трансгенів у різних генетичних фонах (Shavrukov et al., 2016). Відібрана трансгенна лінія BW8-9-10-3 мала значно покращену посухостійкість порівняно з рослинами дикого типу. В умовах сильної посухи лінії зворотного схрещування мали на 12–18 % вищу виживаність, а дві з чотирьох ліній F₃BC₃ показали значно вищу врожайність (на 18,9 і 21,5 %), ніж контрольні рослини в умовах обмеження води.

Китайські дослідники (Gao et al., 2005) трансформували пшеницю сорту Lumai22 геном *GmDREB* сої та отримали трансгенні рослини покоління T1 з покращеною посухостійкістю. Ці рослини мали більшу кількість листя, краще розвинену кореневу систему і вищий вміст розчинного цукру порівняно з контрольними. Крім того, частина трансгенного насіння проростала у 18%-вому розчині ПЕГ 6000, тоді як насіння дикого типу не було життєздатним за таких умов. У різні роки та різних місцях, а також режимах стресу від посухи, були проведені дослідження

посухостійкості трансгенної пшениці з надекспресією гена *GmDREB1* у польових умовах (Zhou et al., 2020). Трансгенні рослини стабільно показували збільшення урожайності (на 4,8–18,4 %) та покращення різноманітних фізіологічних ознак порівняно з рослинами дикого типу, зокрема менше пошкодження мембран, кращу осмотичну адаптацію та ефективність фотосинтезу. Виявлено, що у трансформантів були активовані три ферменти біосинтезу фітогормону мелатоніну. Також на посухостійкість проаналізовані трансгенні рослини пшениці, які несуть ген *GhDREB* бавовни (Gao et al., 2009). Аналіз цих рослин показав, що у них покращилась стійкість до посухи, яка була обумовлена накопиченням розчинного цукру та хлорофілу в листі після дії стресу.

Встановлено, що введення DREB-подібного фактора транскрипції сої *GmTDN1* (Total Digestible Nutrients), який регулює загальну кількість засвоюваних поживних речовин, у рослини сортів озимої пшениці Shi4185 і Jima22 значно покращило їх посухостійкість та стійкість до дефіциту азоту (Zhou et al., 2022). Польові випробування у трьох різних місцях протягом 2–3 років показали, що трансгенні *GmTDN1*-лінії були витривалішими за рослини дикого типу, що значно підвищило врожайність обох сортів. Надекспресія гена *GmTDN1* посилила фотосинтетичну та осмотичну адаптаційну здатність, антиоксидантний метаболізм і збільшила кореневу масу рослин порівняно з контролем шляхом експресії набору стрес-пов'язаних генів. Крім того, рослини трансгенної пшениці з надекспресією гена транспортера нітратів *NRT2.5* покращили поглинання азоту та стійкість до посухи. Це свідчить про те, що збільшення поглинання азоту може сприяти посухостійкості.

Численні ТФ підродина DREB/CBF підвищують стійкість трансгенних рослин до стресу шляхом регулювання стрес-реагуючих генів, якщо вони надекспресуються під контролем сильних конститутивних промоторів (Agarwal et al., 2017). Виявлено, що експресія гена *TaCBF5L* під контролем промотора HDZI-4 привела до покращення посухостійкості пшениці (Yang et al., 2020b). Показано значне збільшення вро-

жайності зерна трансгенної пшениці порівняно з контрольними рослинами в умовах сильної посухи під час цвітіння, хоча коли вони росли в умовах доброго поливу або помірної посухи цього не спостерігалось.

Підродина DREB/CBF також містить невелику групу факторів з активними репресорними мотивами EAR (ERF-ASSOCIATED AMPHIPHILIC REPRESSION MOTIF), які полегшують залучення корепресорів транскрипції та модифікаторів хроматину для пригнічення експресії генів (Kagale and Rozwadowski, 2011). Введення мутацій у мотиви EAR або його видалення приводить до змін властивостей і функцій ТФ (Zhang et al., 2013). Наприклад, надекспресія гена *TaRAP2.1L* негативно впливає на стійкість пшениці до посухи. Однак, надекспресія модифікованого гена *TaRAP2.1Lmut*, з дисфункціональним мотивом EAR, покращує стійкість трансгенних ліній до водного дефіциту (Amalraj et al., 2016), що пояснюється підвищенням регуляції кількох пов'язаних зі стресом генів (*TaCor14B*, *TaRAB17* і *TaCor80*). В умовах сильної посухи модифіковані *TaRAP2.1Lmut*-рослини були на 5–15 % вищими за контрольні, мали кращі показники виживання, але менше зерна, внаслідок чого врожайність контрольних і трансгенних рослин істотно не відрізнялася.

Підродина ТФ цинкового пальця Q-типу C2H2 (ZFP) пшениці бере участь у реакціях на стрес від посухи та збагачена членами, що також містять репресорний мотив EAR (Li et al., 2021). Дослідження функції гена *TaZFP34* показало, що він є транскрипційним репресором і бере участь у модулюванні співвідношення росту коренів і пагонів (Chang et al., 2016). Надекспресія *TaZFP34* у трансгенних рослин призвела до збільшення росту коренів та зменшення росту пагонів. Оскільки він знижує експресію генів, пов'язаних з ростом пагонів (гіберелін 3-оксидази і експансинів), його генетична модифікація може поліпшити їх ріст за посухи.

Підродина ERF (ETHYLENE RESPONSIVE FACTOR)

Її члени регулюють посухостійкість рослин, в основному, через АБК-залежні сигнальні

шляхи, модулюють експресію стрес-споріднених генів для накопичення осмолітів або регулювання здатності рослин поглинати АФК (Wu et al., 2022).

На основі сорту пшениці Yangmail2 створено та охарактеризовано чотири трансгенні лінії з надекспресією гена *TaERF3* (Rong et al., 2014). Модифіковані рослини Т3–Т4 показали значно вищу толерантність до посухи порівняно з контролем. У *TaERF3*-ліній виявлено підвищені рівні транскриптів 10 пов'язаних зі стресом генів, більше накопичення проліну та хлорофілу, тоді як вміст H_2O_2 і продихова провідність були значно знижені.

Кутикула захищає рослини від різноманітних стресів, однак найважливішою її функцією є захист надземних тканин і органів рослин від втрати води. Надекспресія гена *TaSHN1* (SHINE1) у трансгенних рослин пшениці призвела до змін у складі кутикули та рівнів експресії кількох генів її біосинтезу, а також до значного зменшення щільності продихів порівняно з контролем (Bi et al., 2018). Ці зміни сприяли зменшенню зневоднення листя та покращенню посухостійкості трансгенної пшениці. Модифіковані лінії покоління Т2–Т3 показали краще відновлення після сильної посухи порівняно з нетрансформованими рослинами та не знижували врожайність в умовах контрольованого росту рослин у теплиці. Аналіз кутикулярних восків виявив підвищене накопичення алканів у листках трансгенних ліній.

Родина WRKY

WRKY — родина ТФ, які мають консервативний WRKY-домен довжиною близько 60 амінокислотних залишків. Дані ТФ мають ділянки для регуляції транскрипції генів, продукти яких задіяні у різних процесах відповіді на дію стресових факторів та беруть участь у опосередкованій АБК передачі сигналів стресу (Phukan et al., 2016). Посилена експресія генів *TaWRKY* у трансгенних рослин пшениці сприяє зменшенню втрати води, накопиченню осмотично активних речовин та активації антиоксидантних систем.

Китайські вчені (Gao et al., 2018) створили трансгенну пшеницю з надекспресією гена *TaWRKY2*, яка має значно вищу толерантність

до посухи, про що свідчить вищий рівень виживання та нижчий рівень втрати води листям порівняно з контролем. Трансгенні лінії Т1–Т3 мали підвищений вміст проліну, розчинного цукру та хлорофілу. Протягом тривалого періоду посухи перед стадією колосіння, ріст контрольних рослин пригнічувався, тоді як *TaWRKY2*-лінії росли нормально. Підвищення врожайності зерна модифікованих ліній було обумовлено більшою довжиною волоті, більшою кількістю зерна в колосі та більшою надземною біомасою.

ТФ арабідопсису *AtWRKY30* був експресований у пшениці (El-Esawi et al., 2019) та показано, що ріст рослин, біомаса, властивості газообміну, вміст хлорофілу, проліну, розчинних білків та цукру, відносний вміст води у трансгенних рослин були вищими, ніж у нетрансформованих. Це супроводжувалося значно вищим рівнем експресії генів, що кодують антиоксидантні ферменти, і генів, що реагують на стрес (*ERF5a*, *DREB1*, *DREB3*, *WRKY19*, *TIP2* і *AQP7*). Ген *TaWRKY133* є негативним регулятором стійкості рослин пшениці до посухи (Lv et al., 2022). Його РНК-інтерференція сприяла підвищенню толерантності трансформантів до водного дефіциту, що супроводжувалося більшою активністю антиоксидантних ферментів і вищим рівнем експресії стрес-пов'язаних генів.

Родина NAC

Білкі NAM, ATAF1,2 і CUC2 (NAC) складають одну з найбільших родин ТФ, є специфічними для рослин та збагачені членами, які беруть участь у реакції рослин на стрес від посухи. Участь даних ТФ у формуванні посухостійкості полягає в активації генів відповіді на дію стресу, систем сигнальної трансдукції, а також у посиленні антиоксидантної активності. Трансгенні лінії пшениці з надекспресією гена *TaNAC69* за умов обмеження води мали більшу масу пагонів та коренів порівняно з контролем і характеризувалися посиленням експресії кількох стрес-індукованих генів, що сприяло посухостійкості (Xue et al., 2011). Ген ТФ рису *SNAC1* (STRESS-RESPONSIVE NAC1) був введений у китайський сорт пшениці Yangmail2 (Saad et al., 2013). Рослини з надекспресією *SNAC1* показали підвищену то-

лерантність до посухи у кількох поколіннях і мали більш високий вміст води та хлорофілу в листі, збільшену свіжу та суху біомасу порівняно з нетрансформованими.

Родина bZIP (BASIC LEUCINE ZIPPER)

ТФ bZIP характеризуються висококонсервативним bZIP-доменом, який складається з лейцинової застібки та 20 амінокислот, і регулюють експресію стрес-пов'язаних генів через АБК-опосередковану передачу сигналів (Gahlaut et al., 2016).

Ген ТФ bZIP пшениці *TaFDL2-1A* (FLOWERING DATE-LIKE 2 PROTEIN) був надекспресований у трансгенних рослин пшениці сорту Fielder, що покращило їх стійкість до посухи та посилює гіперчутливість до АБК (Wang et al., 2022). Показано, що його надекспресія підвищує чутливість продихів до посухового стресу та ендогенний вміст АБК, а також приводить до збільшення активності антиоксидантних ферментів, зокрема супероксиддисмутази і глутатіонпероксидази шляхом експресії генів *TaSOD1* і *TaGPx1-D*, що вказує на посилене поглинання АФК. Ці результати свідчать про те, що *TaFDL2-1A* позитивно регулює біосинтез АБК, її реакції та видалення АФК для підвищення стійкості трансгенної пшениці до посухи.

Модифіковані рослини пшениці з надекспресією гена *TabZIP2*, вирощені в умовах помірної посухи під час цвітіння, були меншими ніж контрольні, мали знижену кількість колосків і зерна на рослину (Luang et al., 2018). Однак маса окремої зернини у трьох із чотирьох оцінених ліній була збільшена порівняно з такою у контрольних рослин. Зроблено висновок, що *TabZIP2* може бути частиною сигнального шляху, який контролює перебування потоків вуглеводів і поживних речовин в органах рослин у відповідь на посуху. Створено трансгенні лінії пшениці з геном *TaABL1* (*ABI-LIKE1*), що містить консервативний домен bZIP (Xu et al., 2014). Надекспресія гена *TaABL1* у модифікованих рослин в умовах посухи посилювала їх відповідь на АБК і прискорювала закриття продихів, шляхом підвищення експресії деяких стрес-реагуючих генів, тим самим покращуючи посухостійкість.

Родина HD-Zip (HOMEODOMAIN LEUCINE ZIPPER)

Родина ТФ HD-Zip містить домен HD і LZ і належить до суперродини гомеобоксів. Вона вважається ключовою для покращення стійкості рослин до посухи, регулюючи їх захисну реакцію та підтримуючи зростання в умовах дефіциту води (Sharif et al., 2021). Надекспресія генів *HD-Zip* у пшениці підвищує вміст проліну, покращує водоутримувальну здатність і виживаність під час посухи.

Підродина HD-Zip I

ТФ гомеодомен-лейцинової застібки класу I (HD-Zip I) є унікальними для рослин і його члени беруть активну участь в адаптивній відповіді на абіотичні стреси (Perotti et al., 2017). Молекулярний механізм, ініційований цим ТФ, передбачає не закриття продихів, а стабілізацію клітинної мембрани.

Ген *TaHDZip1-5* був введений як трансген у пшеницю (Yang et al., 2018). Надекспресія *TaHDZip1-5* значно підвищила посухостійкість трансгенних ліній, однак вони характеризувалися зменшенням розміру та біомаси рослин, затримкою цвітіння та зниженням врожаю зерна. Спроба покращити фенотип трансгенної пшениці шляхом застосування стрес-індукованих промоторів не призвела до усунення небажаних ефектів.

Генетично модифіковані рослини пшениці, що несуть мутовану версію ТФ соняшнику *HaHB4*, були протестовані в 37 польових експериментах (González et al., 2019). Відібрана трансгенна лінія мала на 9,4 % більшу ефективність використання води, ніж контрольна в усіх досліджуваних середовищах. Вона характеризувалася підвищеною врожайністю зерна, що було обумовлено збільшенням його кількості на 8% на квадратний метр. Перевага за врожайністю трансгенних рослин була більш вираженою за посухи (16%), ніж в умовах без стресу (3%), досягаючи максимуму 97% в одному з найсухіших середовищ. Збільшення кількості зерна у модифікованих рослин супроводжувалося позитивними тенденціями збільшення кількості колосків у колосі, продуктивних пагонів та фертильних квіток на рослину.

Підродина HDZip IV

ТФ арабідопсису *HDG11* (*ARABIDOPSIS HOMEODOMAIN GLOBAROUS11*) регулює експресію генів, які реагують на посуху, в тім числі тих, що беруть участь у шляху синтезу АБК. Він був введений у пшеницю та трансгенні рослини T2 були проаналізовані після 30 днів водного стресу (Li et al., 2016). У *AtHDG11*-ліній збільшилась врожайність і відмічена нижча швидкість втрати води та щільність продихів, одночасно з накопиченням більшого вмісту проліну. У них виявлена вища активність антиоксидантних ферментів та вища чиста швидкість фотосинтезу порівняно з контролем.

Родина ASR

Деякі білки ASR (ABSCISIC ACID-STRESS-RIPENING), наприклад ASR1 у пшениці, розташовані в ядрі та функціонують як ТФ (Li et al., 2020). Вони індукуються АБК і різноманітними сигналами стресу, зокрема посухою, а його конститутивна експресія поліпшує адаптацію рослин до стресу (Li et al., 2020). Основна роль *ASR* полягає у регулюванні гомеостазу АФК. Трансгенні рослини пшениці сорту Zhengmai 9023 з надекспресією гена *TaASR1-D* показали підвищену толерантність до посухи (Qiu et al., 2021), що було обумовлено посиленням антиоксидантної здатності і чутливості до АБК, при цьому вони мали нижчу врожайність зерна.

Родина bHLH (BASIC HELIX-LOOP-HELIX)

Родина білків основної спіралі-петлі-спіралі (bHLH) є другою за величиною надродиною ТФ, яка широко залучена до регуляції реакції рослин на абіотичні стреси. Показано, що ТФ *TabHLH49* позитивно регулює експресію гена дегідрину *WZY2* і підвищує стійкість трансгенних рослин пшениці до посухи (Liu et al., 2020). Лінії з надекспресією гена *TabHLH49*, після природної посухи впродовж 10 днів, показали краще зростання порівняно з контролем, мали значно нижчий вміст МД, вищий відносний вміст води та хлорофілу.

Родина BES/BZR (BRI1-EMS SUPPRESSOR (BES)/BRASSINAZOLE-RESISTANT (BZR))

Члени родини ТФ BES/BZR є ключовими компонентами сигнального шляху брасино-

тероїдів і задіяні у реакції відповіді на посуху (Ye et al., 2017). Встановлено, що ТФ пшениці *TaBZR2* активує експресію глутатіон-S-трансферази-1 (*TaGST1*), яка позитивно функціонує в очищенні посухо-індукованих аніонів супероксиду (O_2^-) та діє як позитивний регулятор сигналізації брасиностероїдів. В умовах посухи трансгенні рослини сорту Fielder з надекспресією *TaBZR2* мали вищі показники виживання, більший вміст проліну, значно сповільнене скручування листя, нижчий рівень витоку електроліту та вмісту МД порівняно з контролем (Cui et al., 2019).

Родина NF-Y (NUCLEAR FACTOR GAMMA)

Родина відіграє важливу роль у регулюванні фізіологічних процесів, пов'язаних із реакціями рослин на абіотичний стрес. Ядерний фактор NF-Y вважається гетеротримерним комплексом, що складається з трьох субодиниць: NF-YA, NF-YB, NF-YC (Zhang et al., 2023). NF-Y бере участь у відповіді на стрес від посухи у АБК-залежному шляху та регулює стійкість рослин шляхом модуляції експресії гена рецептора АБК PYR1. Також підвищує посухостійкість рослин, функціонуючи в АБК-незалежному шляху, покращуючи ефективність фотосинтезу, підвищуючи активність антиоксидантних ферментів і знижуючи вміст пероксиду водню (Zhang et al., 2023). ТФ NF-Y можуть сприяти підвищенню стійкості до одних типів абіотичного стресу, тоді як чутливість до інших збільшується. Так, у рослин пшениці, в яких експресується *TaNF-YA10-1*, спостерігалась вища посухостійкість та підвищена чутливість до засолення через репресію генів, продукти яких беруть участь в адаптації до сольового стресу (Ma et al., 2015).

Вплив надекспресії гена *TaNF-YB4* у трансгенних рослин пшениці сорту Gladius оцінювали в умовах задовільного зволоження (покоління T1–T3) та за помірної посухи (покоління T2) (Yadav et al., 2015). За оптимальних умов поливу модифіковані рослини мали значно більше колосків, що сприяло підвищенню врожайності зерна на 20–30 % порівняно з нетрансформованими. В умовах помірної посухи трансгенні лінії за продуктивністю не відрізнялися від контрольних рослин. Китай-

ські вчені (Zhao et al., 2022) створили трансгенні лінії, що несуть ген *TaNF-YA7-5B*, який кодує субодиницю NY-YA. Надекспресія *TaNF-YA7-5B* у модифікованих рослинах сприяла покращенню їх росту під час дегідратації, викликаній ПЕГ, що в основному пояснюється функцією гена в регулюванні закриття продихів і утриманні води в листі, біосинтезі осмолітів та клітинного гомеостазу АФК. Ці лінії також мали підвищену експресію генів антиоксидантних ферментів *TaSOD3*, *TaCAT1* і *TaPOD4*.

Родина MYB (MYELOBLASTOMA)

Білки MYB беруть участь у багатьох фізіологічних процесах, включаючи синтез гормонів, а також у АБК-залежному сигнальному шляху для регуляції генів, що реагують на абіотичний стрес (Dubos et al., 2010). Показано, що ген *TaPIMP1* з підродиною ТФ *R2R3* MYB пшениці, позитивно модулює захисні реакції на посуховий стрес, регулюючи стрес-захисні гени у сигнальному шляху АБК — саліцилова кислота (Zhang et al., 2012). Трансгенна пшениця з надекспресією *TaPIMP1* показала значно вищу посухостійкість порівняно з нетрансформованою. Показники виживання восьми *TaPIMP1*-ліній становили 51,5–55,2 %, а у контролі — 15,0 %. Пригнічення експресії гена *TaMpc1-D4* (MYB PROTEIN COLOURLESS 1), члена родини ТФ *R2R3* MYB, підвищило відносний вміст води, проліну та активність антиоксидантних ферментів, а також активувало стрес-реагуючі гени (Li et al., 2020).

Слід зазначити, що зниження експресії або виключення генів, які є негативними регуляторами посухостійкості пшениці, може сприяти поліпшенню її толерантності до цього абіотичного стресу. Це стосується, наприклад, гена *TaGT2L1* родини ТФ GT (триспіральних ТФ, які виконують регулятивні функції у розвитку продихів в однодольних), а його надекспресія помітно збільшує їх кількість і знижує стійкість до посухи (Zheng et al., 2016). Показано, що Е3-лігаза *TaGW2* безпосередньо взаємодіє з регулятором відповіді арабідопсису типу В *TaARR12* і убіквітує його, сприяючи його деградації. Встановлено, що нокдаун *TaARR12* у нокаутному мутанті *TaGW2*, приводить до значно вищої посухостійкості та

врожайності зерна порівняно з рослинами дикого типу (Li et al., 2024).

Таким чином, конститутивна надекспресія ТФ, що реагують на стрес від посухи, може підвищити стійкість рослин пшениці до водного дефіциту шляхом поліпшення їх фізіолого-біохімічних характеристик, але в деяких випадках чинить негативний вплив, такий як затримка цвітіння, карликовість та зменшення врожайності. Тому, чутливі до стресу гени ТФ повинні бути перевірені шляхом використання промоторів, індукованих стресом, які можуть обмежити несприятливі ефекти.

Протеїнкінази

Протеїнкінази регулюють ключові аспекти клітинної функції, включаючи відповіді на абіотичні стреси (Hrabak et al., 2003). Для створення трансгенних рослин був використаний висококонсервативний ген серин-треонін протеїнкінази пшениці *TaPEPKR2*, який індукується посухою (Zang et al., 2018). Він кодує кіназу, споріднену до фосфоенолпіруваткарбоксілази, ферменту, який, ймовірно, бере участь у фосфорилюванні РЕРС. У трансгенних ліній пшениці з надекспресією гена *TaPEPKR2* спостерігався кращий ріст і вища стійкість до зневоднення, вони мали більшу загальну довжину коренів у присутності 10 % поліетиленгліколю, ніж контрольні (Zang et al., 2018). Трансгенна пшениця з надекспресією гена *TaCIPK23* (CBL-взаємодіюча протеїнкіназа) показала вищу виживаність за посухи, кращу швидкість проростання, більш розвинену кореневу систему, підвищене накопичення осмолітів і зниження швидкості втрати води порівняно з нетрансформованими рослинами (Cui et al., 2018). Надекспресія гена *TaCIPK19* у трансгенній пшениці забезпечує стійкість до посухи як на стадії проростків, так і на стадії зрілості, що обумовлено підвищеною здатністю поглинати АФК (Wu et al., 2023).

Посттрансляційна модифікація білків

Регулювання посттрансляційної модифікації білка за допомогою малих убіквітинподібних модифікаторів SUMO (Small Ubiquitin-Like Modifier) є важливим біохімічним механізмом для регулювання росту рослин під час стресу (Guerra et al., 2015). Ле Ру та ін. (2019) провели

перше дослідження впливу сумоїлірування на пшеницю шляхом перенесення гена цистеїнової протеази *OTS1* (*OVERLY TOLERANT TO SALT-1*) арабідопсису. Трансгенна пшениця з надекспресією гена *OTS1* мала високий відносний вміст води, покращене зростання і сповільнене старіння під час посухи, за рахунок підвищення ефективності фотосинтезу та збільшення вмісту хлорофілу порівняно з контролем.

Підвищення посухостійкості пшениці шляхом редагування геному

Впродовж останнього десятиліття технології редагування геному стали потужним інструментом генетичного поліпшення пшениці (Nigro et al., 2024). Використовуючи систему CRISPR/Cas9 було покращено багато важливих агрономічних ознак даної культури, таких як стійкість до хвороб, врожайність та якість зерна, біофортіфікація, передзбиральне проростання зерна та структура рослин (Borisjuk et al., 2019; Kishchenko et al., 2021; Awan et al., 2022; Nigro et al., 2024). Однак на сьогодні досягнуто невеликого прогресу у створенні мутантів пшениці з покращеною стійкістю до абіотичних стресів (Zafar et al., 2020). Відносно толерантності до посухи, то на сьогоднішній день була проведена незначна кількість досліджень на пшениці, в яких застосовувалася система CRISPR/Cas9. Ця система була применена для проведення цільового редагування у протопластах пшениці двох стрес-чутливих генів, що кодують ТФ *TaDREB2* та *TaERF3* (Kim et al., 2018). Для обох генів була розроблена єдина направляюча РНК (sgRNA), яка викликала зміни у двох з трьох гомеологів, тоді як третя копія генів *TaDREB2* та *TaERF3* не була редагована відповідно через дві та одну невідповідність саме між геном і розробленою нРНК. Ефективність мутагенезу була підтверджена аналізом розщеплення рестриктазою, аналізом ендонуклеази T7 та секвенуванням.

Система CRISPR/Cas9 з трьома направляючими РНК використовувалася для інактивації шести гомологічних генів *Sal1* (кодує біфункціональний фермент з активністю інозитолполіфосфат-1-фосфатази і 3'(2'),5'-бісфосфатнуклеотидази) у геномі м'якої пшениці сорту Bobwhite (Mohr et al., 2022). Отримані мутантні рослини пшениці з усіма відключеними

генами *Sal1* мали більш тонкі стебла, помірне зменшення біомаси та старіли повільніше в умовах обмеження води, але не показали покращеної врожайності за посухи. Абдалла та ін. (Abdallah et al., 2022) використали підхід мультиплексного редагування генів для нокауту п'яти активних гомологічних копій гена *TaSal1* у сорті пшениці Giza 168. Серед 120 трансгенних рослин у 41-ї лінії виявили редагування, ці мутації були спадковими в потомстві M1, а п'ять ліній мали повний нокаут 5 генів. Молоде листя відредагованих ліній *TaSal1* мало закриті продихи, більшу їх ширину і розміри буліформних клітин. Проростки мутантів *TaSal1* зростали краще на середовищі з ПЕГ, ніж проростки дикого типу.

Загалом ці попередні результати свідчать, що система CRISPR/Cas9 є ефективним інструментом для цільового редагування геному пшениці та створення нових ліній з покращеною посухостійкістю. На сьогодні у пшениці розгортання систем варіантів CRISPR-Cas, таких як CRISPR/sgRNA і CRISPR/Cas12a, CRISPR/Cas13a, CRISPR/Cas13b, редагування основ цитидину, аденозину та універсальне редагування використовується для індукції точних точкових мутацій (Nigro et al., 2024), що безумовно буде сприяти прогресу у поліпшенні її посухостійкості.

Заклучення

Нещодавнє секвенування геному пшениці відкрило значні можливості для розуміння складної системи механізмів її стійкості до посухи. Його поєднання з транскриптомним, протеомним та метаболомним профілюванням генів, пов'язаних з різними ознаками стійкості до посухи, допомагає у визначенні її генетичної основи у даної культури. З розвитком технологій функціональної геноміки було виявлено багато нових структурних і регуляторних генів, які беруть участь у реакціях пшениці на стрес від посухи, і можуть бути використані для покращення її толерантності до водного дефіциту за допомогою традиційних трансгенних технологій та передових інструментів редагування геному. Розпочато їх використання для створення генетично модифікованих рослин та підтверджено, що низка цих генів мають потенціал для покращення посухостійкості пше-

ниці у польових випробуваннях. Вперше до комерційного використання у Аргентині та Бразилії дозволена трансгенна пшениця, яка містить транскрипційний фактор *HaHB4* соняшника, та має підвищену ефективність використання води і більшу врожайність (Ortoño and Vesprini, 2018).

Однак, трансгенез досі мало застосовується у селекції пшениці і тому є низка причин. У той час як з фізіологічної точки зору, виживання (або відновлення) є основною ознакою стійкості рослин до стресу, то з агрономічної точки зору врожайність є ключовим чинником стрес-стійких культур. Більшість створених трансгенних рослин пшениці були випробувані в штучно створених стресових умовах короткотривалий час, з відновленням рослин після стресу як ознакою толерантності. У природних умовах рослинам доводиться справлятися з різними комбінаціями стресів на різних стадіях розвитку та протягом різної тривалості. У польових умовах стрес дефіциту води прогресує повільно і поступовим чином, регулюючи відповідно морфологічні та фізіологічні ознаки (Sachdev et al., 2021). Тому відповідь трансгену може бути змінена в полі, а його захисні ефекти можуть бути пригнічені. Точне фенотипування є надважливим для поліпшення стійкості до посухи, і його слід проводити відповідно до неоптимальних польових умов, щоб зробити правильні припущення про роль виявлених генів, що контролюють посухостійкість, та їх використання в селекції пшениці.

Той рівень стійкості до посухи, який передбачався на початкових етапах роботи, не був повністю досягнутий у багатьох трансгенних рослин, трансформованих одним геном. Тому майбутні дослідження мають бути зосереджені на поєднанні різних стратегій, таких як мультигенний підхід для одночасного включення у трансгенну рослину більш ніж одного гена. У цьому контексті гени, що синтезують осмопротектори, повинні коекспресуватися з іншими генами, пов'язаними зі стресом, такими як ТФ, транспортери іонів та інші функціональні гени. Крім того, трансформація пшениці може створити абсолютно нові взаємодії між генами, що змушує їх функціонувати інакше, ніж можна було б очікувати. У контрольованих умовах доцільно проводити оцінку трансформантів

на стійкість до комбінованої дії стресорів, яка зустрічається у природі (посуха і високі температури або засолення і високі температури).

В даний час у цільовому редагуванні геному пшениці для поліпшення її посухостійкості ще не досягнуто великого прогресу. Поява технологій секвенування наступного покоління надала інформацію, яка значно полегшить ідентифікацію гомеологічних цільових сайтів, придатних для редагування генів пшениці, задіяних у реакціях на стрес від посухи. Застосування нових варіантів системи CRISPR-Cas буде сприяти поліпшенню її посухостійкості шляхом безпосереднього впровадження цільових модифікацій у сорт, який викликає інтерес. Загалом ці біотехнологічні підходи, трансгенні та нетрансгенні, у поєднанні з високопродуктивним генотипуванням та фенотипуванням рослин сприяють розробці швидких і точних програм селекції пшениці.

Отже, незважаючи на складність генетичної обумовленості стійкості пшениці до посухи, розвиток нових прогресивних методів біотехнології сприяє вирішенню проблеми підвищення її толерантності до водного дефіциту. На сьогодні важливим є те, щоб результати молекулярних досліджень та генетичних маніпуляцій були задіяні в селекційних програмах генетичного вдосконалення пшениці.

Дотримання етичних стандартів. Ця стаття не містить результатів будь-яких досліджень з використанням людей і тварин в якості об'єктів.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність будь-якого конфлікту інтересів.

Фінансування. Публікація містить результати досліджень, проведених в рамках фінансованого Кабінетом Міністрів України проєкту «Розроблення сучасних методів маркер-допоміжної селекції та технологій коротких інтерферуючих РНК для створення високопродуктивних сортів-інновацій озимої пшениці з поліпшеною якістю зерна, стійких до екологічних стресів». (КПКВК 6541230; № держреєстрації 0123U100780).

GENETIC MODIFICATION OF WHEAT TO INCREASE ITS DROUGHT TOLERANCE

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

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

E-mail: dubrovny@ukr.net, mykhalskasvitlana@gmail.com, allakomisarenko2017@gmail.com

Wheat is a strategic agricultural crop in the world and plays a leading role in the food supply of mankind. Despite the generally increasing trend of its production, global climate changes and the associated increase in the number of soil and air droughts during the growing season of plants require the development of new strategies in the adaptation of wheat to this abiotic stress factor, the action of which causes a decrease in yield. Genetic engineering made it possible to increase the efficiency of creating new drought-resistant genotypes of wheat, and its application became a significant addition to the traditional selection of this crop. Recently, some progress has been made in identifying key regulators of drought tolerance in wheat, and new genes have been identified that confer resistance and improve plant growth and survival. The presented literature review provides examples of successful application of genetic engineering to improve wheat adaptation to drought. Genes involved in the biosynthesis of osmolytes, proteins, and enzymes that function as scavengers of reactive oxygen species, molecular chaperones, and ion transporters, as well as regulatory genes of transcription factors and protein kinases and used to increase drought resistance of wheat, were considered. Information on the physiological and biochemical characteristics of genetically modified plants with various built-in genes for testing their tolerance to water deficit in controlled or field conditions is summarized. The results of editing the wheat genome to improve its drought resistance are presented.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Abdallah, N.A., Elsharawy, H., Abulela, H.A., Thilmoney, R., Abdelhadi, A.A., and Elarabi, N.I., Multiplex CRISPR/Cas9-mediated genome editing to address drought tolerance in wheat, *GM Crops Food*, 2022, vol. 6, pp. 1–17. <https://doi.org/10.1080/21645698.2022.2120313>
- Abebe, T., Guenzi, A.A., Martin, B., and Cushman, J.C., Tolerance of mannitol-accumulating transgenic wheat to water stress and salinity, *Plant Physiol.*, 2003, vol. 131, pp. 1748–1755. <https://doi.org/10.1104/2Fpp.102.003616>
- Adel, S., and Carels, N., Plant tolerance to drought stress with emphasis on wheat, *Plants*, 2023, vol. 12, pp. 2170. <https://doi.org/10.3390/plants12112170>
- Agarwal, P., Gupta, K., Lopato, S., and Agarwal, P., Dehydration responsive element binding transcription factors and their applications for the engineering of stress tolerance, *J. Exp. Bot.*, 2017, vol. 68, pp. 2135–2148. <https://doi.org/10.1093/jxb/erx118>
- Ahmed, R., Irfana, M., Shakirb, H., Khan, M., and Chen, L., Engineering drought tolerance in plants by modification of transcription and signalling factors, *Biotechnol. Biotechnol. Equipment.*, 2020, vol. 34, pp. 781–789. <https://doi.org/10.1080/13102818.2020.1805359>
- Amalraj, A., Luang, S., Kumar, M.M., Sornaraj, P., Eini, O., Kovalchuk, N., Bazanova, N., Li, Y., Yang, N., Eliby, S., et al., Change of function of the wheat stress-responsive transcriptional repressor TaRAP2.1L by repressor motif modification, *Plant Biotechnol. J.*, 2016, vol. 14, pp. 820–832. <https://doi.org/10.1111/pbi.12432>
- Andrés, Z., Pérez-Hormaeche, J., Leidi, E., Schlücking, K., Steinhorst, L., McLachlan, D.H., Schumacher, K., Hetherington, A.M., Kudla, J., Cubero B., and Pardo, J.M., Control of vacuolar dynamics and regulation of stomatal aperture by tonoplast potassium uptake, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2014, vol. 111, E1806–E1814. <https://doi.org/10.1073/pnas.1320421111>
- Annunziata, M.G., Ciarmiello, L.F., Woodrow, P., Dell'Aversana, E., and Carillo, P., Spatial and temporal profile of glycine betaine accumulation in plants under abiotic stresses, *Front. Plant Sci.*, 2019, vol. 10, pp. 230. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00230>
- Anwar, A., Wang, K., and Wang, J., Expression of Arabidopsis Ornithine Aminotransferase (AtOAT) encoded gene enhances multiple abiotic stress tolerances in wheat, *Plant Cell Reports*, 2021, vol. 40, pp. 1155–1170. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-175437/v1>
- Artur, M., Zhao, T., Ligterink, W., Schranz, E., and Hilhorst, H., Dissecting the Genomic Diversification of Late Embryogenesis Abundant (LEA) Protein Gene Families in Plants, *Genome Biol. Evol.*, 2019, vol. 11, pp. 459–471. <https://doi.org/10.1093/gbe/evy248>
- Awan, M.J.A., Pervaiz, K., Rasheed, A., Amin, I., Saeed, N.A., Dhugga, K.S., and Mansoor, S., Genome edited wheat – current advances for the second green revolution, *Biotechnol. Adv.*, 2022, vol. 60, pp. 108006. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2022.108006>
- Ayadi, M., Brini, F., and Masmoudi, K., Overexpression of a wheat Aquaporin gene, *Tdpip2;1*, enhances salt and drought tolerance in transgenic durum wheat Cv. Maali, *Int. J. Mol. Sci.*, 2019, vol. 20, pp. 2389. <https://doi.org/10.3390/ijms20102389>
- Bahieldin, A., Hesham, H.H., Eissa, H.H., Saleh, O.O., Ramadan, A.A., Ahmed, I.I., Dyer, W.W., El-Itriby, H.H., and Madkour, M.A., Field evaluation of transgenic wheat plants stably expressing the HVA1 gene for drought tolerance, *Physiol. Plant.*, 2005, vol. 123,

- pp. 421–427. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-3054.2005.00470.x>
- Baillo, E.H., Kimotho, R.N., Zhang, Z., and Xu, P., Transcription factors associated with abiotic and biotic stress tolerance and their potential for crops improvement, *Genes*, 2019, vol. 10, pp. 771. <https://doi.org/10.3390/genes10100771>
- Bapela, T., Shimelis, H., Tsilo, T.J., and Mathew, I., Genetic improvement of wheat for drought tolerance: progress, challenges and opportunities, *Plants*, 2022, vol. 11, pp. 1331. <https://doi.org/10.3390/plants11101331>
- Barragán, V., Leidi, E., Andrés, Z., Rubio, L., De Luca, A., Fernández, J.A., Cubero, B., and Pardo, J.M., Ion exchangers NHX1 and NHX2 mediate active potassium uptake into vacuoles to regulate cell turgor and stomatal function in Arabidopsis, *Plant Cell*, 2012, vol. 24, pp. 1127–1142. <https://doi.org/10.1105/tpc.111.095273>
- Bez nec, A., Faccio, P., Miralles, D.J. Abeledo, L.G., Oneto, C.D., Garibotto, M.B., Gonzalez, G., Moreyra, F., Elizondo, M., Ruíz, M., et al., Stress-induced expression of *IP T* gene in transgenic wheat reduces grain yield penalty under drought, *J. Genet. Eng. Biotechnol.*, 2021, vol. 19, pp. 67. <https://doi.org/10.1186/s43141-021-00171-w>
- Bhattacharya, S., and Kundu, A., In Protective Chemical Agents in the Amelioration of Plant Abiotic Stress, Ed. by A. Roychoudhury, (West Sussex, UK, 2020,) pp. 71–101.
- Bi, H., Shi, J., Kovalchuk, N., Luang, S., Bazanova, N., Chirkova, L., Zhang, D., Shavrukov, Y., Stepanenko, A., Tricker, P., et al., Overexpression of the TaSHN1 transcription factor in bread wheat leads to leaf surface modifications, improved drought tolerance, and no yield penalty under controlled growth conditions, *Plant Cell Environ.*, 2018, vol. 41, pp. 2549–2566. <https://doi.org/10.1111/pce.13339>
- Borishuk, N., Kishchenko, O., Eliby, S., Schramm, C., Anderson, P., Jatayev, S., Kurishbayev, A., and Shavrukov, Y., Genetic modification for wheat improvement: from transgenesis to genome editing, *BioMed Research International*, 2019, vol. 5, pp. 1–18. <https://doi.org/10.1155/2019/6216304>
- Calderón, A., Sevilla, F., and Jiménez, A., Redox protein thioredoxins: Function under salinity, drought and extreme temperature conditions, *Antioxidants and Antioxidant Enzymes in Higher Plants*, 2018, pp. 123–162. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-75088-0_7
- Chang, H., Chen, D., Kam, J., Richardson, T., Drenth, J., Guo X., McIntyre, C.L., Chai, S., Rae A.L., and Xue, G.P., Abiotic stress upregulated TaZFP34 represses the expression of type-B response regulator and SHY2 genes and enhances root to shoot ratio in wheat, *Plant Science*, 2016, vol. 252, pp. 88–102. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2016.07.011>
- Chauhan, H., and Khurana, P., Use of doubled haploid technology for development of stable drought tolerant bread wheat (*Triticum aestivum* L.) transgenics, *Plant Biotechnol. J.*, 2011, vol. 9, pp. 408–417. <https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2010.00561.x>
- Chaumont, F., and Tyerman, S.D., Aquaporins: Highly regulated channels controlling plant water relations, *Plant Physiol.*, 2014, vol. 164, pp. 1600–1618. <https://doi.org/10.1104/pp.113.233791>
- Cui, X.X., Du, Y.Y., Fu, J.J., Yu, T.T., Wang, C.C., Chen, M., Chen, J., Ma, Y.Y., and Xu, Z.Z., Wheat CBL-interacting protein kinase 23 positively regulates drought stress and ABA responses, *BMC Plant Biol.*, 2018, vol. 18, pp. 93. <https://doi.org/10.1186/s12870-018-1306-5>
- Cui, X.Y., Gao, Y., Guo, J., Yu, T.F., Zheng, W.J., Liu, Y.W., Chen, J., Xu, Z.S., and Ma, Y.Z., BES/BZR Transcription Factor TaBZR2 positively regulates drought responses by activation of TaGST1, *Plant Physiol.*, 2019, vol. 180, pp. 605–620. <https://doi.org/10.1104/pp.19.00100>
- De Lima, L.A.D.C., Schuster, I., and da Costa, A.C.T., Vendruscolo, E.C.G., Evaluation of wheat events transformed with the p5cs gene under conditions of water stress, *Revista de Ciências Agrárias*, 2019, vol. 42, pp. 448–455. <https://doi.org/10.19084/rca.17268>
- Dubos, C., Stracke, R., Grotewold, E., Weisshaar, B., Martin, C., and Lepiniec, L., MYB transcription factors in Arabidopsis, *Trends Plant Sci.*, 2010, vol. 15, pp. 573–581. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.06.005>
- Dubrovna, O.V., Mykhalska, S.I., and Komisarenko, A.G., Using of proline metabolism genes in plant genetic engineering, *Cytol. Genet.*, 2022b, vol. 56, pp. 361–378. <https://doi.org/10.3103/S009545272204003X>
- Dubrovna, O.V., Priadkina, G.O., Mykhalska, S.I., and Komisarenko, A.G., Water deficiency tolerance of genetically modified common wheat cv. Zymoyarka, containing a heterologous ornithine-δ-amino-transferase gene, *Agric. Sci. Prac.*, 2021, vol. 8, pp. 25–39. <https://doi.org/10.15407/agrisp8.01.014>
- Dubrovna, O.V., Priadkina, G.O., Mykhalska, S.I., and Komisarenko, A.G., Drought-tolerance of transgenic winter wheat with partial suppression of the proline dehydrogenase gene, *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 2022, vol. 13, pp. 385–392. <https://doi.org/10.15421/022251>
- Dubrovna, O.V., Stasik, O.O., Priadkina, G.O., Zbozivska, O.V., and Sokolovska-Sergiienko, O.G., Resistance of genetically modified wheat plants, containing a double-stranded RNA suppressor of the proline dehydrogenase gene, to soil moisture defi-

- ciency, *Agric. Sci. Prac.*, 2020, vol. 7, pp. 24–34. <https://doi.org/10.15407/agrisp7.02.024>
- El-Esawi, M.A., Al-Ghamdi, A.A., Ali, H.M., and Ahmad, M., Overexpression of AtWRKY30 transcription factor enhances heat and drought stress tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.), *Genes*, 2019, vol. 10, pp. 163. <https://doi.org/10.3390/genes10020163>
- El-Mouhamady, A., El-Hawary, M., and Habouh, M., Transgenic wheat for drought stress tolerance, *Middle East Journal of Agriculture Research*, 2023, vol. 12, pp. 77–94. <https://doi.org/10.36632/mejar/2023.12.2.17>
- Erenstein, O., Jaleta, M., Mottaleb, K., Sonder, K., Donovan, J., and Braun, H., In *Wheat Improvement Food Security in a Changing Climate*, Ed. M. Reynolds and H. Braun (Springer, Switzerland, 2022), pp. 47–66.
- Fehér-Juhász, E., Majer, P., Sass, L., Lantos, C., Csiszár, J., Turyczy, Z., Mihály, R., Mai, A., Horváth, G.G., and Vass, I., et al., Phenotyping shows improved physiological traits and seed yield of transgenic wheat plants expressing the alfalfa aldose reductase under permanent drought stress, *Acta Physiol. Plant.*, 2014, vol. 36, pp. 663–673. <https://doi.org/10.1007/s11738-013-1445-0>
- Funck, D., Stadelhofer, B., and Koch, W., Ornithine-delta-aminotransferase is essential for arginine catabolism but not for proline biosynthesis, *BMC Plant Biol.*, 2008, vol. 8, pp. 40. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-8-40>
- Gahlaut, V., Jaiswal, V., Kumar, A., and Gupta, P.K., Transcription factors involved in drought tolerance and their possible role in developing drought tolerant cultivars with emphasis on wheat (*Triticum aestivum* L.), *Theor. Appl. Genet.*, 2016, vol. 129, pp. 2019–2042. <https://doi.org/10.1007/s00122-016-2794-z>
- Gao, H., Wang, Y., Xu, P., and Zhang, Z., Overexpression of a WRKY transcription factor TaWRKY2 enhances drought stress tolerance in transgenic wheat, *Front. Plant Sci.*, 2018, vol. 9, pp. 997. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00997>
- Gao, S., Xu, H., Cheng, X., Chen, M., Xu, Z., Li, L., Ye, X., Du, L., Hao, X., and Ma, Y., Improvement of wheat drought and salt tolerance by expression of a stress inducible transcription factor GmDREB of soybean (*Glycine max*), *Chin. Sci. Bull.*, 2005, vol. 50, pp. 2714–2723. <https://doi.org/10.1007/BF02899641>
- Gao, S.Q., Chen, M., Xia, L.Q., Xiu, H.J., Xu, Z.S., Li, L.C., Zhao, C.P., Cheng, X.G., and Ma, Y.Z., A cotton (*Gossypium hirsutum*) DRE-binding transcription factor gene, *GhDREB*, confers enhanced tolerance to drought, high salt, and freezing stresses in transgenic wheat, *Plant Cell Rep.*, 2009, vol. 28, pp. 301–311. <https://doi.org/10.1007/s00299-008-00623-9>
- Ghosh, U.K., Islam, M.N., Siddiqui, M.N., Cao, X., and Khan, M.A.R., Proline, a multifaceted signalling molecule in plant responses to abiotic stress: understanding the physiological mechanisms, *Plant Biol.*, 2022, vol. 24, pp. 227–239. <https://doi.org/10.1111/plb.13363>
- Giri, J., Glycinebetaine and abiotic stress tolerance in plants, *Plant Signal. Behav.*, 2011, vol. 6, pp. 1746–1751. <https://doi.org/10.4161/psb.6.11.17801>
- González, F.G., Capella, M., Ribichich, K.F., Currin, F., Giacomelli, J.I., Ayala, F., Watson, G., Otegui, M.E., and Chan, R.L., Field-grown transgenic wheat expressing the sunflower gene HaHB4 significantly outyields the wild type, *J. Exp. Bot.*, 2019, vol. 70, pp. 1669–1681. <https://doi.org/10.1093/jxb/erz037>
- Habib, I., Shahzad, K., Rauf, M., Ahmad, M., Alsamadany, H., Fahad, S., and Saeed, N.A., Dehydrin responsive HVA1 driven inducible gene expression enhanced salt and drought tolerance in wheat, *Plant Physiol. Biochem.*, 2022, vol. 180, pp. 124–133. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2022.03.035>
- He, C., Zhang, W., Gao, Q., Yang, A., Hu, X., and Zhang, J., Enhancement of drought resistance and biomass by increasing the amount of glycinebetaine in wheat seedlings, *Euphytica*, 2011, vol. 177, pp. 151–167. <https://doi.org/10.1007/s10681-010-0263-3>
- 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., Kumar, C.A., EL Sabagh, A., and Islam, T., Consequences and mitigation strategies of abiotic stresses in wheat (*Triticum aestivum* L.) under the changing climate, *Agronomy*, 2021, vol. 11, pp. 241. <https://doi.org/10.3390/agronomy11020241>
- Hrabak, E.E., Chan, C.C., Gribskov, M., Harper, J.J., Choi, J.J., Halford, N., Kudla, J., Luan, S., Nimmo, H.G., and Sussman, M.R., et al., The Arabidopsis CDPK-SnRK superfamily of protein kinases, *Plant Physiol.*, 2003, vol. 132, pp. 666–680. <https://doi.org/10.1104/pp.102.011999>
- Hussain, Q., Asim, M., Zhang, R., Khan, R., Farroq, S., and Wu, J., Transcription factors interact with ABA through gene expression and signaling pathways to mitigate drought and salinity stress, *Biomolecules.*, 2021, vol. 11, pp. 1159. <https://doi.org/10.3390/biom11081159>
- Ivanyuta, S., Kolomiets, O., Malinovskaya, O., and Yakushenko, L., In *Climate change: consequences and adaptation measures: analytical report*, Ed. S. Ivanyuta (Kiyv, NISD, 2020), pp. 64–68.
- Jogawat, A., in *Molecular Plant Abiotic Stress: Biology and Biotechnology*, Ed. A. Roychoudhury and D. Tripathi (Wiley, New York, 2019), pp. 91–97.

- Kagale, S., and Rozwadowski, K., EAR motif-mediated transcriptional repression in plants: an underlying mechanism for epigenetic regulation of gene expression, *Epigenetics*, 2011, vol. 6, pp. 141–146. <https://doi.org/10.4161%2Fepi.6.2.13627>
- Kapoor, D., Bhardwaj, S., Landi, M. Sharma, A., Ramakrishnan, M., and Sharma, A., The impact of drought in plant metabolism: How to exploit tolerance mechanisms to increase crop production, *Appl. Sci.*, 2020, vol. 10, pp. 5692. <https://doi.org/10.3390/app10165692>
- Khan, S., Anwar, S., Yu, S. Sun, M., Yang, Z., and Gao, Z., Development of drought-tolerant transgenic wheat: Achievements and limitations, *In. J. Mol. Sci.*, 2019, vol. 20, pp. 3350. <https://doi.org/10.3390/ijms20133350>
- Kim, D., Alptekin, B., and Budak, H., CRISPR/Cas9 genome editing in wheat, *Funct. Integr. Genom.*, 2018, vol. 18, pp. 31–41. <https://doi.org/10.1007/s10142-017-0572-x>
- Kishchenko, O., Stepanenko, A., and Borisjuk, M., Induced mutagenesis in wheat: from ionizing radiation to site-specific gene editing, *Fiziol. Rast. Genet.*, 2021, vol. 53, pp. 29–54. <https://doi.org/10.15407/frg2021.01.029>
- Kneeshaw, S., Keyani, R., Delorme-Hinoux, V., Imrie, L., and Spoel, S.H., Nucleoredoxin guards against oxidative stress by protecting antioxidant enzymes, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2017, vol. 114, pp. 8414–8419. <https://doi.org/10.1073/pnas.1703344114>
- Kolupaev, Y.U.E., and Kokorev, O.I., Participation of polyamines in regulation of redox homeostasis in plants. *The bulletin of Kharkiv national agrarian university, Series biology*, 2019, vol. 1, pp. 6–22. <https://doi.org/10.35550/vbio2019.01.006>
- Komisarenko, A.G., Mykhalska, S.I., and Kurchii, V.M., Osmotolerance of T4 generation monocotyledonous and dicotyledonous plants with suppressed expression of proline catabolism gene, *Plant Physiology and Genetics*, 2020, vol. 52, pp. 434–448. <https://doi.org/10.15407/frg2020.05.434>
- Komisarenko, A.G., Mykhalska, S.I., and Kurchii, V.M., Productivity of winter wheat plants with the additional copy of ornithine-δ-aminotransferase gene under water deficit conditions, *Factors of experimentation evolution of organism*, 2019, vol. 25, pp. 247–252. <https://doi.org/10.7124/FEEO.v25.1171>
- Kvasko, A.Yu., Isayenkov, S.V., Dmytruk, K.V., Sibirny, A.A., Blume, Ya.B., and Yemets, A.I., Obtaining of wheat (*Triticum aestivum* L.) lines with yeast genes of trehalose biosynthesis, *Cytol. Genet.*, 2020, vol. 54, pp. 3–14. <https://doi.org/10.3103/S0095452720040088>
- Le Roux, M.L., Kunert, K.J., van der Vyver, C., Cullis, C.A., and Botha, A.M., Expression of a small ubiquitin-like modifier protease increases drought tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.), *Front. Plant Sci.*, 2019, vol. 10, pp. 266. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00266>
- Liang, C., in *Drought Stress Tolerance in Plants*, Vol 2, Ed. M. Hossain, S. Wani, S. Bhattacharjee, D. Burritt and L. Tran, (Springer, 2016), pp. 531–547.
- Li, H., Guan, H., Zhuo, Q., Wang, Z., Li, S., Si, J., and Zhang, B., Genome-wide characterization of the abscisic acid-, stress- and ripening-induced (ASR) gene family in wheat (*Triticum aestivum* L.), *Biol. Res.*, 2020, vol. 53, pp. 23. <https://doi.org/10.1186%2Fs40659-020-00291-6>
- Li, J., Liu, X., Chang, S., Chu, W., Lin, J., Zhou, H., Hu, Z., Zhang, M., Xin, M., Yao, Y., Guo, W., Xie, X., Peng, H., Ni, Z., Sun, Q., Long, Y., and Hu, Z., The potassium transporter TaNHX2 interacts with TaGAD1 to promote drought tolerance via modulating stomatal aperture in wheat, *Sci. Adv.*, 2024, vol. 10. <https://doi.org/10.1126/sciadv.adk4027>
- Li, L., Zheng, M., Deng, G., Liang, J., Zhang, H., Pan, Z., Long, H., and Yu, M., Overexpression of AtHDG11 enhanced drought tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.), *Mol. Breed.*, 2016, vol. 36, pp. 23. <https://doi.org/10.1007/s11032-016-0447-1>
- Li, S., Zhang, Y., Liu, Y., Zhang, P., Wang, X., Chen, B., Ding, L., Nie, Y., Li, F., Ma, Z., Kang, Z., and Mao, H., The E3 ligase TaGW2 mediates transcription factor TaARR12 degradation to promote drought resistance in wheat, *Plant Cell*, 2024, vol. 36, pp. 605–625. <https://doi.org/10.1093/plcell/koad307>
- Li, X., Tang, Y., Li, H., Luo, W., Zhou, C., Zhang, L., and Lv, J., A wheat R2R3 MYB gene *TaMpc1-D4* negatively regulates drought tolerance in transgenic *Arabidopsis* and wheat, *Plant Science*, 2020, vol. 299, pp. 110613. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2020.110613>
- Li, Y., Sun, A., Wu, Q., Zou, X., Chen, F., Cai, R., Xie, H., Zhang, M., and Guo, X., Comprehensive genomic survey, structural classification and expression analysis of C2H2-type zinc finger factor in wheat (*Triticum aestivum* L.), *BMC Plant Biol.*, 2021, vol. 21, pp. 380 <https://doi.org/10.1186/s12870-021-03016-3>
- Liu, H., Yang, Y., Liu, D., Wang, X., Zhang, L., Transcription factor TabHLH49 positively regulates dehydrin *WZY2* gene expression and enhances drought stress tolerance in wheat, *BMC Plant Biol.*, 2020, vol. 20, pp. 259. <https://doi.org/10.1186%2Fs12870-020-02474-5>
- Luang, S., Sornaraj, P., Bazanova, N., Jia, W., Eini, O., Hussain, S.S., Kovalchuk, N., Agarwal, P., Hrmo-

- va, M., and Lopato, S., The wheat TabZIP2 transcription factor is activated by the nutrient starvation-responsive SnRK3/CIPK protein kinase, *Plant Mol. Biol.*, 2018, vol. 96, pp. 543–561. <https://doi.org/10.1007/s11103-018-0713-1>
- Lv, M., Luo, W., Ge, M., Guan, Y., Tang, Y., Chen, W., and Lv, J., Group I WRKY Gene, TaWRKY133, Negatively Regulates Drought Resistance in Transgenic Plants, *Int. J. Mol. Sci.*, 2022, vol. 23, pp. 12026. <https://doi.org/10.3390/ijms231912026>
- Ma, X.Y., Li, C.L., and Wang, M., Wheat NF-YA10 functions independently in salinity and drought stress, *Bioengineered*, 2015, vol. 4, pp. 245–247. <https://doi.org/10.1080/21655979.2015.1054085>
- Mega, R., Abe, F., Kim, J.S., Tsuboi, Y., Tanaka, K., Kobayashi, H., Sakata, Y., Hanada, K., Tsujimoto, H., and Kikuchi, J., et al., Tuning water-use efficiency and drought tolerance in wheat using abscisic acid receptors, *Nat. Plants*, 2019, vol. 5, pp. 153–159. <https://doi.org/10.1038/s41477-019-0361-8>
- Mehmood, K., Arshad, M., Ali, G.M., Shah, M.A., and Zia, A.A., Drought stress tolerance in transgenic wheat conferred by expression of a dehydration-responsive element-binding 1a gene, *Appl. Ecol. Environ. Res.*, 2020, vol. 18, pp. 1999–2024. https://doi.org/10.15666/aer%2F1802_19992024
- Mohr, T., Horstman, J., Gu, Y.Q., Elarabi, N.I., Abdallah, N.A., and Thilmony, R., CRISPR-Cas9 gene editing of the *sal1* gene family in wheat, *Plants*, 2022, vol. 11, pp. 2259. <https://doi.org/10.3390/plants11172259>
- Morran, S., Eini, O., Pyvovarenko, T., Parent, B., Singh, R., Ismagul, A., Eliby, S., Shirley, N., Langridge, P., and Lopato, S., Improvement of stress tolerance of wheat and barley by modulation of expression of DREB/CBF factors, *Plant Biotechnol. J.*, 2011, vol. 9, pp. 230–249. <https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2010.00547.x>
- Munemasa, S., Hauser, F., Park, J., Waadt, R., Brandt, B., and Schroeder, J.I., Mechanisms of abscisic acid-mediated control of stomatal aperture, *Curr. Opin. Plant Biol.*, 2015, vol. 28, pp. 154–162. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2015.10.010>
- Mykhalska, S.I., Komisarenko, A.G., and Kurchii, V.M., Genes of proline metabolism in biotechnology of increasing wheat osmostability, *Factors of Experimentation Evolution of Organism*, 2021, vol. 28, pp. 94–99. <https://doi.org/10.7124/FEEO.v28.1382>
- Nigro, D., Smedley, M., Camerlengo, F., and Hayta, S., In A roadmap for plant genome editing, Eds A. Riccio, D. Eriksson, D. Miladinović, J. Sweet, K. Van Laere and E. Woźniak-Gientka (Springer, Switzerland, 2024), pp. 183–201.
- Noor, S., Ali, S., Rehman, H., Ullah, F., and Ali, G.M., Comparative study of transgenic (DREB1A) and non-transgenic wheat lines on relative water content, sugar, proline and chlorophyll under drought and salt stresses, *Sarhad J. Agric.* 2018, vol. 34, pp. 986–993. <http://dx.doi.org/10.17582/journal.sja/2018/34.4.986.993>
- Nowsherwan, I., Shabbir, G., Malik, S.I., Ilyas, M., Iqbal, M., and Musa, M., Effect of drought stress on different physiological traits in bread wheat, *SAARS J. Agric.*, 2018, vol. 16, pp. 1–6. <https://doi.org/10.3329/SJA.V16I1.37418>
- Orroño, D.D., and Vesprini, F., Directives and requirements for genetically modified (GM) crop regulation in Argentina, *Crop Breed. Appl. Biotechnol.*, 2018, vol. 18, pp. 301–308. <https://doi.org/https://doi.org/10.1590/1984-70332018v18n3r44>
- Pavei, D., Gonçalves-Vidigal, M.M., Schuelter, A.A., Schuster, I., Vieira, E.E., Vendruscolo, E.E., and Poletine, J.J., Response to water stress in transgenic (*p5cs* gene) wheat plants (*Triticum aestivum* L.), *Aust. J. Crop Sci.*, 2016, vol. 10, pp. 776–783. <https://doi.org/10.21475/AJCS.2016.10.06.P7000>
- Pellegrineschi, A., Reynolds, M., Pacheco, M., Brito, R.M., Almeraya, R., Yamaguchi-Shinozaki, K., and Hoisington, D., Stress-induced expression in wheat of the Arabidopsis thaliana DREB1A gene delays water stress symptoms under greenhouse conditions, *Genome*, 2004, vol. 247, pp. 493–500. <https://doi.org/10.1139/g03-140>
- Perotti, M.F., Ribone, P.A., and Chan, R.L., Plant transcription factors from the homeodomain-leucine zipper family I. Role in development and stress responses, *IUBMB Life*, 2017, vol. 69, pp. 280–289. <https://doi.org/10.1002/iub.1619>
- Phukan, U.J., Jeena, G.S., and Shukla, R.K., WRKY transcription factors: molecular regulation and stress responses in plants, *Front. Plant Sci.*, 2016, vol. 7, pp. 760. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00760>
- Qin, N., Xu, W., Hu, L., Li, Y., Wang, H., Qi, X., Fang, Y., and Hua, X., Drought tolerance and proteomics studies of transgenic wheat containing the maize C4 phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPC) gene, *Protoplasma*, 2016, vol. 253, pp. 1503–1512. <https://doi.org/10.1007/s00709-015-0906-2>
- Qiu, D., Hu, W., Zhou, Y., Xiao, J., Hu, R., Wei, Q., Zhang, Y., Feng, J., Sun, F., and Sun, J., et al., TaASR1-D confers abiotic stress resistance by affecting ROS accumulation and ABA signalling in transgenic wheat, *Plant Biotechnol. J.*, 2021, vol. 19, pp. 1588–1601. <https://doi.org/10.1111/pbi.13572>
- Reguera, M., Peleg, Z., and Blumwald, E., Targeting metabolic pathways for genetic engineering abiotic stress-tolerance in crops, *Biochim. Biophys. Acta-Gene Regul. Mech.*, 2012, vol. 1819, pp. 186–194. <https://doi.org/10.1016/j.bbagr.2011.08.005>

- Rong, W., Qi, L., Wang, A., Ye, X., Du, L., Liang, H., Xin, Z., and Zhang, Z., The ERF transcription factor TaERF3 promotes tolerance to salt and drought stresses in wheat, *Plant Biotechnol. J.*, 2014, vol. 12, pp. 468–479. <https://doi.org/10.1111/pbi.12153>
- Saad, A.S., Li, X., Li, H.P., Huang, T., Gao, C.S., Guo, M.W., Cheng, W., Zhao, G.Y., and Liao, Y.C., A rice stress-responsive NAC gene enhances tolerance of transgenic wheat to drought and salt stresses, *Plant Sci.*, 2013, vol. 203–204, pp. 33–40. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2012.12.016>
- Sachdev, S., Ansari, S.A., Ansari, M.I., Fujita, M., and Hasanuzzaman, M., Abiotic stress and reactive oxygen species: generation, signaling, and defense mechanisms, *Antioxidants*, 2021, vol. 10, pp. 277. <https://doi.org/10.3390/antiox10020277>
- Saint Pierre, C.S., Crossa, J.L., Bonnett, D., Yamaguchi-Shinozaki, K., and Reynolds, M.P., Phenotyping transgenic wheat for drought resistance, *J. Experimental Botany*, 2012, vol. 63, pp. 1799–1808. <https://doi.org/10.1093/jxb/err385>
- Sampedro, J., and Cosgrove, D.J., The expansin superfamily, *Genome Biol.*, 2005, vol. 6, pp. 242–252. <https://doi.org/10.1186/gb-2005-6-12-242>
- Samtani, H., Sharma, A., and Khurana, P., Overexpression of *HVA1* enhances drought and heat stress tolerance in *Triticum aestivum* doubled haploid plants, *Cells*, 2022, vol. 11, pp. 912. <https://doi.org/10.3390/cells11050912>
- Shamuyarira, K.W., Shimelis, H., Tapera, T., and Tsilol, T.J., Genetic advancement of newly developed wheat populations under drought-stressed and non-stressed conditions, *J. Crop Sci. Biotechnol.*, 2019, vol. 22, pp. 169–176. <https://doi.org/10.1007/s12892-018-0262-0>
- Sharif, R., Raza, A., Chen, P., Li, Y., El-Ballat E., Rauf A., Hano A., and El-Esawi, M., HD-ZIP Gene Family: Potential Roles in Improving Plant Growth and Regulating Stress-Responsive Mechanisms in Plants, *Genes*, 2021, vol. 12, pp. 1256. <https://doi.org/10.3390/genes12081256>
- Sharif, R., Su, L., Chen, X., and Qi, X., Hormonal interactions underlying parthenocarpic fruit formation in horticultural crops, *Horticulture Research*, 2022, 9:uhab024. <https://doi.org/10.1093/hr/uhab024>
- Shavrukov, Y., Baho, M., Lopato, S., and Langridge, P., The *TaDREB3* transgene transferred by conventional crossings to different genetic backgrounds of bread wheat improves drought tolerance, *Plant Biotechnol. J.*, 2016, vol. 14, pp. 313–322. <https://doi.org/10.1111/pbi.12385>
- Shiferaw, B., Smale, M., Braun, H., Duveiller, E., Reynolds, M., and Muricho, G., Crops that feed the world 10. Past successes and future challenges to the role played by wheat in global food security, *Food Security*, 2013, vol. 5, pp. 291–317. <https://doi.org/10.1007/s12571-013-0263-y>
- Shinozaki, K., and Yamaguchi-Shinozaki, K., Gene networks involved in drought stress response and tolerance, *J. Exp. Bot.*, 2007, vol. 58, pp. 221–227. <https://doi.org/10.1093/jxb/erl164>
- Sivamani, E., Bahieldin, A., Wraith, J.M., Al-Niemi, T., Dyer, W.E., Ho, T.H.D., and Qu, R., Improved biomass productivity and water use efficiency under water deficit conditions in transgenic wheat constitutively expressing the barley *HVA1* gene, *Plant Sci.*, 2000, vol. 155, pp. 1–9. [https://doi.org/10.1016/s0168-9452\(99\)00247-2](https://doi.org/10.1016/s0168-9452(99)00247-2)
- Su, P., Sui, C., Niu, Y., Li, J., Wang, S., Sun, F., Yan, J., and Guo, S., Comparative transcriptomic analysis and functional characterization reveals that the class III peroxidase gene *TaPRX-2A* regulates drought stress tolerance in transgenic wheat, *Front. Plant Sci.*, 2023, vol. 14, pp. 1119162. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1119162>
- Tardieu, F., Simonneau, T., and Muller, B., The physiological basis of drought tolerance in crop plants: a scenario-dependent probabilistic approach, *Annu. Rev. Plant Biol.*, 2018, vol. 69, pp. 733–759. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042817-040218>
- Trono, D., and Pecchioni, N., Candidate genes associated with abiotic stress response in plants as tools to engineer tolerance to drought, salinity and extreme temperatures in wheat, *Plants*, 2022, vol. 11, pp. 3358. <https://doi.org/10.3390/plants11233358>
- Vendruscolo, E.C.G., Schuster, I., Pileggi, M., Scapim, C.A., Molinari, H.B.C., Marur, C.J., and Vieira, L.G.E., Stress-induced synthesis of proline confers tolerance to water deficit in transgenic wheat, *Plant Physiol.*, 2007, vol. 164, pp. 1367–1376. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2007.05.001>
- Wang, B., Li, L., Liu, M., Peng, D., Wei, A., Hou, B., Lei, Y., and Li, X., *TaFDL2-1A* confers drought stress tolerance by promoting ABA biosynthesis, ABA responses, and ROS scavenging in transgenic wheat, *Plant J.*, 2022, vol. 112, pp. 722–737. <https://doi.org/10.1111/tpj.15975>
- Wang, G.G., Hui, Z., Li, F., Zhao, M.M., Zhang, J., and Wang, W., Improvement of heat and drought photosynthetic tolerance in wheat by overaccumulation of glycinebetaine, *Plant Biotechnol. Rep.*, 2010b, vol. 4, pp. 213–222. <http://dx.doi.org/10.1007/s11816-010-0139-y>
- Wang, G.P., Zhang, X.Y., Li, F., Luo, Y., and Wang, W., Overaccumulation of glycine betaine enhances tolerance to drought and heat stress in wheat leaves in the protection of photosynthesis, *Photosynthetica*, 2010a, vol. 48, pp. 117–126. <https://doi.org/10.1007/s11099-010-0016-5>

- Wang, J., Li, C., and Li, L., DIW1 encoding a clade I PP2C phosphatase negatively regulates drought tolerance by de-phosphorylating TaSnRK1.1 in wheat, *J. Integr. Plant Biol.*, 2023, vol. 65, pp. 1918–1936. <https://doi.org/10.1111/jipb.13504>
- Wang, J.J., Yang, F.F., Chen, X.X., Liang, R.R., Zhang, L.L., Geng, D.D., Zhang, X.X., Song, Y.Y., and Zhang, G.S., Induced expression of DREB transcriptional factor and study on its physiological effects of drought tolerance in transgenic wheat, *Acta Genet. Sin.*, 2006, vol. 33, pp. 468–476. [https://doi.org/10.1016/s0379-4172\(06\)60074-7](https://doi.org/10.1016/s0379-4172(06)60074-7)
- Wu, Y., Li, X., Zhang, J., Zhao, H., Tan, S., Xu, W., Pan, J., Yang, F., and Pi, E., ERF subfamily transcription factors and their function in plant responses to abiotic stresses, *Front. Plant Sci.*, 2022, vol. 13, pp. 1042084. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1042084>
- Wu, Y., Luo, Q., Wu, Z., Yu, J., Zhang, Q., Shi, F., Zou, Y., Li, L., Zhao, H., Wang, Y., Chen, M., Chang, J., and He, G., A straight-forward gene mining strategy to identify TaCIPK19 as a new regulator of drought tolerance in wheat, *Plant Physiology and Biochemistry*, 2023, vol. 203, pp. 108034. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2023.108034>
- Xu, D.B., Gao, S.Q., Ma, Y.Z., Xu, Z.S., Zhao, C.P., Tang, Y.M., Li, X.Y., Li, L.C., Chen, Y.F., and Chen, M., ABI-like transcription factor gene TaABL1 from wheat improves multiple abiotic stress tolerances in transgenic plants, *Funct. Integr. Genom.*, 2014, vol. 14, pp. 717–730. <https://doi.org/10.1007/s10142-014-0394-z>
- Xue, G.G., Way, H.H., Richardson, T., Drenth, J., Joyce, P.A., and McIntyre, C.L., Overexpression of *TaNAC69* leads to enhanced transcript levels of stress up-regulated genes and dehydration tolerance in bread wheat, *Mol. Plant*, 2011, vol. 4, pp. 697–712. <https://doi.org/10.1093/mp/ssr013>
- Yadav, D., Shavruk, Y., Bazanova, N., Chirkova, L., Borisjuk, N., Kovalchuk, N., Ismagul, A., Parent, B., Langridge, P., Hrmova, M., et al., Constitutive overexpression of the TaNF-YB4 gene in transgenic wheat significantly improves grain yield, *J. Exp. Bot.*, 2015, vol. 66, pp. 6635–6650. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv370>
- Yang, J., Zhang, G., An, J., Li, Q., Chen, Y., Zhao, X., Wu, J., Wang, Y., Hao, Q., Wang, W., and Wang, W., Expansin gene *TaEXPA2* positively regulates drought tolerance in transgenic wheat (*Triticum aestivum* L.), *Plant Sci.*, 2020a, vol. 298, pp. 110596. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2020.110596>
- Yang, Y., Al-Baidhani, H.H.J., Harris, J., Riboni, M., Li, Y., Mazonka, I., Bazanova, N., Chirkova, L., Hussain, S., Hrmova, M., et al., DREB/CBF expression in wheat and barley using the stress-inducible promoters of *HD-ZipI* genes: Impact on plant development, stress tolerance and yield, *Plant Biotechnol. J.*, 2020b, vol. 18, pp. 829–844. <https://doi.org/10.1111/pbi.13252>
- Yang, Y., Luang, S., Harris, J., Riboni, M., Li, Y., Bazanova, N., Hrmova, M., Haefele, S., Kovalchuk, N., and Lopato, S., Overexpression of the class I homeodomain transcription factor TaHDZip1-5 increases drought and frost tolerance in transgenic wheat, *Plant Biotechnol. J.*, 2018, vol. 16, pp. 1227–1240. <https://doi.org/10.1111/pbi.12865>
- Yang, Z., and Qin, F., The battle of crops against drought: Genetic dissection and improvement, *J. Integr. Plant Biol.*, 2023, vol. 65, pp. 496–525. <https://doi.org/10.1111/jipb.13451>
- Yatsyshyn, V.Yu., Kvasko, A.Yu., and Yemets, A.I., Genetic approaches for studying the role of trehalose in plants, *Cytol. Genet.*, 2017, vol. 51, pp. 371–383. <https://www.doi.org/10.3103/S0095452717050127>
- Ye, H., Liu, S., Tang, B., Chen, J., Xie, Z., Nolan, T.M., Jiang, H., Guo, H., Lin, H.Y., Li, L., et al., RD26 mediates crosstalk between drought and brassinosteroid signalling pathways, *Nat. Commun.*, 2017, vol. 8, pp. 14573. <https://doi.org/10.1038/ncomms14573>
- Yu, T.T., Xu, Z.Z., Guo, J.J., Wang, Y.Y., Abernathy, B., Fu, J.J., Chen, X., Zhou, Y.Y., Chen, M., Ye, X.X., et al., Improved drought tolerance in wheat plants overexpressing a synthetic bacterial cold shock protein gene *SeCsp*, *Sci. Rep.*, 2017, vol. 7, pp. 44050. <https://doi.org/10.1038/srep44050>
- Zafar, S., Zaid, S., Gaba, Y., Singla-Pareek, S.L., Dhankher, O.P., Li, X., Mansoor, S., and Pareek, A., Engineering abiotic stress tolerance via CRISPR/Cas-mediated genome editing, *J. Exp. Bot.*, 2020, vol. 71, pp. 470–479. <https://doi.org/10.1093/jxb/erz476>
- Zang, X., Geng, X., He, K., Wang, F., Tian, X., Ni, Z., Yao, Y., Hu, Z., Xin, M., Sun, Q., et al., Overexpression of the wheat (*Triticum aestivum* L.) *TaPEPKR2* gene enhances heat and dehydration tolerance in both wheat and Arabidopsis, *Front. Plant Sci.*, 2018, vol. 9, pp. 1710. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01710>
- Zang, X., Geng, X., Wang, F., Liu, Z., Zhang, L., Zhao, Y., Tian, X., Ni, Z., Yao, Y., Xin, M., et al., Overexpression of wheat ferritin gene *TaFER-5B* enhances tolerance to heat stress and other abiotic stresses associated with the ROS scavenging, *BMC Plant Biol.*, 2017, vol. 17, pp. 14. <https://doi.org/10.1186/s12870-016-0958-2>
- Zhang, H., Liu, S., Ren, T., Niu, M., Liu, X., Liu, C., Wang, H., Yin, W., and Xia, X., Crucial Abiotic Stress Regulatory Network of NF-Y Transcription

- Factor in Plants, *Int. J. Mol. Sci.*, 2023, vol. 24, pp. 4426. <https://doi.org/10.3390/ijms24054426>
- Zhang, H., Xu, W., Wang, H., Hu, L., Li, Y., Qi, X., Zhang, L., Li, C., and Hua, X., Pyramiding expression of maize genes encoding phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPC) and pyruvate orthophosphate dikinase (PPDK) synergistically improve the photosynthetic characteristics of transgenic wheat, *Protoplasma*, 2014, vol. 251, pp. 1163–1173. <https://doi.org/10.1007/s00709-014-0624-1>
- Zhang, H., Zhang, J., Quan, R., Pan, X., Wan, L., and Huang, R., EAR motif mutation of rice OsERF3 alters the regulation of ethylene biosynthesis and drought tolerance, *Planta*, 2013, vol. 237, pp. 1443–1451. <https://doi.org/10.1007/s00425-013-1852-x>
- Zhang, Y., Zhou, J., Wei, F., Song, T., Yu, Y., Yu, M., et al., Nucleoredoxin gene *TaNRX1* positively regulates drought tolerance in transgenic wheat (*Triticum aestivum* L.), *Front. Plant Sci.*, 2021, vol. 12, pp. 756338. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.756338>
- Zhang, Z., Liu, X., Wang, X., Zhou, M., Zhou, X., Ye, X., and Wei, X., An R2R3 MYB transcription factor in wheat, TaPIMP1, mediates host resistance to *Bipolaris sorokiniana* and drought stresses through regulation of defense- and stress-related genes, *New Phytol.*, 2012, vol. 196, pp. 1155–1170. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2012.04353.x>
- Zhang, Z.Z., Hua, L., Gupta, A., Tricoli, D., Edwards, K.J., Yang, B., and Li, W., Development of an Agrobacterium-delivered CRISPR/Cas9 system for wheat genome editing, *Plant Biotechnol. J.*, 2019, vol. 17, pp. 1623–1635. <https://doi.org/10.1111/pbi.13088>
- Zhao, Y., Zhang, Y., Li, T., Ni, C., Bai, X., Lin, R., and Xiao, K., *TaNF-YA7-5B*, a gene encoding nuclear factor Y (NF-Y) subunit A in *Triticum aestivum*, confers plant tolerance to PEG-inducing dehydration simulating drought through modulating osmotic stress-associated physiological processes, *Plant Physiol. Biochem.*, 2022, vol. 188, pp. 81–96. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2022.07.036>
- Zheng, X., Liu, H., Ji, H., Wang, Y., Dong, B., Qiao, Y., Liu, M., and Li, X., The Wheat GT Factor TaGT2L1D Negatively Regulates Drought Tolerance and Plant Development, *Sci. Reports*, 2016, vol. 6, pp. 27042. <https://doi.org/10.1038/srep27042>
- Zhou, Y., Liu, J., Guo, J., Wang, Y., Ji, H., Chu, X., Xiao, K., Qi, X., Hu, L., Li, H., Hu, M., Tang, W., and Yan, J., *GmTDN1* improves wheat yields by inducing dual tolerance to both drought and low-N stress, *Plant Biotechnology Journal*, 2022, vol. 20, pp. 1606–1621. <https://doi.org/10.1111/pbi.13836>
- Zhou, Y.B., Chen, M., Guo, J.K., Wang, Y.X., Min, D.H., Jiang, Q.Y., and Ji, H.T. et al., Overexpression of soybean *DREB1* enhances drought stress tolerance of transgenic wheat in the field, *J. Exp. Bot.*, 2020, vol. 71, pp. 1842–1857. <https://doi.org/10.1093/jxb/erz569>
- Надійшла в редакцію 05.01.2025
Після доопрацювання 15.01.2025
Прийнята до друку 18.05.2025