

УДК:575:27.576.3:633.11

## СУЧАСНИЙ СТАН ДОСЛІДЖЕНЬ *AGROBACTERIUM*-ОПОСЕРЕДКОВАНОЇ ТРАНСФОРМАЦІЇ ПШЕНИЦІ

О.В. ДУБРОВНА, Б.В. МОРГУН

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

У літературному огляді проаналізовано сучасний стан досліджень з генетичної інженерії пшениці, зокрема *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації. Розглянуто переваги цього методу порівняно з іншими методами доставки гетерологічних генів. Узагальнено відомості про чинники, які впливають на ефективність *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації: генотип рослин, типи експлантатів; штами *Agrobacterium*, векторні плазмиди, тканиноспецифічні та індуковані промотори, репортерні й селективні гени.

*Ключові слова:* *Triticum L.*, *Agrobacterium*-опосередкована трансформація.

Пшениця є однією з основних продовольчих культур світу, яку вирощують на більш як 17 % орних земель, її споживає ~ 40 % населення світу [83]. Поширеність цієї культури зумовлена високою біологічною пластичністю щодо екологічних умов, насамперед високою поживністю зерна, з якого отримують багато харчових продуктів. В Україні нею засівають у середньому 6,0 млн га або 40 % площі всіх зернових. На сьогодні в Державному реєстрі сортів України налічується близько 260 сортів пшениці, серед яких переважає озима м'яка. Хоча загалом виробництво пшениці в світі зростає, кліматичні зміни, що призводять до великих температурних перепадів, надмірних опадів чи посух, та поява нових рас патогенів і шкідників значно позначаються на її врожайності. Поява нових загроз і кліматичних змін потребує швидшого реагування і створення сортів, стійких до екстремальних чинників довкілля.

У провідних біотехнологічних центрах світу широко проводяться роботи зі створення нових форм сільськогосподарських рослин методами генетичної інженерії, бо розробки методів культури тканин у поєднанні з генетичною трансформацією значно розширюють сферу генетичного поліпшення рослин. Хоча пшениця є однією з основних сільськогосподарських культур, в її генетичному поліпшенні методами генетичної інженерії спостерігається відносно повільний прогрес порівняно з іншими культурами. Вона була однією з останніх успішно і стабільно трансформованих культур.

В останні два десятиліття широко використовують різноманітні підходи для введення екзогенної ДНК у пшеницю. Для передачі рекомбінантної ДНК у різних видів цієї культури застосовують кілька методичних підходів. Генетична трансформація може бути опосередкована природним біологічним вектором, наприклад *Agrobacterium tumefaciens*, або прямою системою доставки гена (біобалістична трансформація, електропорація, мікроін'єкції, лазери,  $\text{Ca}^{2+}$ -залежна трансформація за наявності поліетиленгліколю, використання волокон карбїду кремнію і наночастинок стільникового мезопористого кремнезему — MSN система), яка залучає фізичні, електричні або хімічні засоби для його доставки. Найпоширенішими методами є бомбардуванням мікрочастинками і співкультивування з *Agrobacterium tumefaciens* [17].

Хоча *Agrobacterium*-опосередковану трансформацію широко застосовують для генетичної модифікації більшості сільськогосподарських культур, у зернових вона спочатку не мала успіхів, бо ці культури природно несприйнятливі до *Agrobacterium* [71]. Вважалось, що трансформація злаків за допомогою *Agrobacterium* неможлива через відсутність специфічних сигнальних молекул, які індукують *Vir*-ділянку і вирізання Т-ДНК. Поліпшення технологій *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації до середини 1990-х років привело до бажаної генетичної модифікації пшениці [17, 23]. З початку 1990-х років докладено чимало зусиль і проведено багато робіт для досягнення стабільної трансформації різних видів цієї культури за допомогою *Agrobacterium* [17, 92]. Ченг і співавт. [23] вперше повідомили про стабільну трансформацію пшениці методом спільного культивування з агробактерією і продемонстрували успішну передачу трансгенів у наступне покоління. Близько 35 % трансгенних рослин мали одну копію трансгена і від 1 до 5 копій були інтегровані в геном пшениці без перебудови.

У більшості експериментів з *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації застосовували інкубацію придатних експлантатів з інокулюмом агробактерії. Муні і співавт. [60] вперше показали, що поранення не є необхідним для приєднання бактерій до експлантатів пшениці і повідомили про збільшення адгезії бактерій на місці поранення, спричиненої механічними і ферментативними методами обробки. Чен і Дейл [22] повідомили про вищу частоту інфікування апікальних меристем зневодненого насіння пшениці порівняно з інтактним. Махалакшмі і Хурана [56] протестували придатність різних експлантатів для *Agrobacterium*-опосередкованої доставки генів і повідомили про збільшення транз'єнтної експресії гена *gus* у зрілому насінні, яке піддавали механічному пораненню стиранням. Індукції *vir*-генів, необхідної для перенесення Т-ДНК, досягали пораненням, а також використанням хімічних індукторів, таких як ацетосирингон.

Біологічний спосіб доставки ДНК за допомогою *Agrobacterium* має переваги в інтеграції: дає змогу вводити порівняно велику генетичну конструкцію, забезпечує включення в геном реципієнта обмеженого числа копій чужорідного гена з високою ефективністю і

мінімальними порушеннями в його послідовності, що зазвичай відбувається за фізичного способу доставки ДНК, потенційно спричинює менше проблем, пов'язаних з косупресією й нестабільністю трансгена. Очікується, що *Agrobacterium* буде надійним, ефективним і економічним вектором для доставки агрономічно важливих екзогенних генів у геном пшениці. Проте для ефективного застосування цього методу існуючі методики необхідно вдосконалити й адаптувати для роботи з конкретним рослинним об'єктом.

Розробка відповідного методу *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації — дуже складне завдання, бо важливо зрозуміти вплив усіх чинників, задіяних у процесі доставки Т-ДНК у клітини, з яких може бути регенерована рослина. Після регенерації необхідні подальші аналізи для перевірки інтеграції та стабільності Т-ДНК і підвищення ефективності трансформації. Визначено кілька чинників, які впливають на ефективність Т-ДНК доставки: первинні експлантати; штами *Agrobacterium*, векторні плазмиди, щільність суспензії клітин *Agrobacterium*, склад живильних середовищ; умови трансформації, такі як температура і час прекультивування, інокуляції, кокультивування; наявність поверхнево-активних речовин або індукційних агентів при інокуляції та кокультивуванні; антибіотики чи селективні маркери тощо [17, 42, 44, 62, 84].

**Генотип пшениці.** Регенерація в культурі *in vitro* є одним із найважливіших ключових чинників у протоколах *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації пшениці. Вона значною мірою залежить від генотипу рослини, тому це основний чинник, що впливає на ефективність трансформації. Доведено, що на регенерацію *in vitro* сильно діють регулятори росту рослин. Використання ауксинів, цитокінінів і поліамінів значно підвищує частоту регенерації з експлантатів конкретного генотипу [46, 76].

Найвищу ефективність трансформації виявлено у сорту пшениці Bobwhite, що має значну регенераційну здатність. Цей сорт ярої пшениці використаний у більш як 25 % робіт з *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації пшениці і стає «модельним генотипом» [33]. У роботах з генетичної інженерії застосовують також такі сорти, як Turbo [41]; Millewa [60]; Chinese Spring [52]; Kedong 58, Rascal, Scamp [57]; Lona [91]; Baldus [15]; Fielder [89]; Florida та Cadenza [102]; Vesna [58]; Veery-5 [46] та ін. В Україні для генетичної трансформації пшениці використовують сорти Зимоярка [1–4, 7]; Подолянка [5, 6, 8]; Фаворитка, Смуглянка, Достаток, Володарка [9]. Крім того, для генетичної модифікації також застосовують інші види *Triticum*, зокрема *Triticum dicoccum* [25]; *T. durum* [67]; *T. turgidum* [100].

**Тип експлантата.** Тип експлантата — одна з основних перешкод для *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації пшениці, оскільки регенерація відбувається з тканин із високою регенераційною здатністю й активним поділом клітин. Із цих тканин індукуються ембріогенний калюс і регенеруються трансгенні пагони. Для отримання фертильних рослин зазвичай використовують два типи експлантатів: незрілі суцвіття і незрілі зародки (таблиця), а також інші експлантати, такі як репродуктивні органи [54], насіння [110], лист-

*Agrobacterium*-опосередкована трансформація пшениці в культурі *in vitro* та методом *in planta*

Вид, сорт пшениці	Тип експлантата	Штам <i>A. tumefaciens</i>	Бінарний вектор	Промотор/ген	Частота транс-формації, %	Посилання
<i>Triticum aestivum</i>						
Turbo	Колосок	C58C1	pGV3850::1103neo	Nos/npt II	1–2,6	[41]
Millewa (яра)	Незрілі зародки	C58C1	pGV3850::1103neo	Nos: npt II	1–2	[60]
Chinese Spring (яра)	Колосок	LBA4404 A281 C58C1 GV3101	pBI121 pPCV6NFFHygro	Nos/npt II CaMV35S:hip CaMV35S:gus	0,8–4,7	[52]
Ganmai 8	“	C58C1	pGV3850::1103neo	nos/npt II	Невідома	[107]
Bobwhite (яра)	Проростки	ЕНА105	pIG121Hm	nos/npt II CaMV35S:hip CaMV35S:gus	28 осередків/ насіння	[90]
Bobwhite (яра)	Незрілі зародки; прекультивовані незрілі зародки; калос, отриманий із незрілих зародків	C58 (ABI)	pMON18365	CaMV35S:gus CaMV35S: npt II	0,14–4,3	[23]
Rascal (яра) Scamp (яра) Kedong 58 (озима)	Калос, отриманий із незрілих зародків	ЕНА101 LBA4404 LBA9402 Ar2626	pBECKS:red pBECKS:sgfp-S65T pBECKS:GUSintron	CaMV35S:gus CaMV35S:sgfp CaMV35S:Lc/Cl nosnpt II	Не вказано	[57]
Chinese Spring (яра)	Калос, отриманий зі зрілих зародків; калос, отриманий із незрілих зародків	GV3101	pMVTBP pNPHK1 p356GUSINT	CaMV35S:gus CaMV35S:npt II	1,2–2,2	[69]
Chinese Spring (Several) (яра)	Незрілі зародки; калос, отриманий із незрілих зародків	AGL1	pUNN2	Ubi1:nptII	3,7–5,9	[103]

*Продовження таблиці*

				Ubi1: gus	20 осередків/ калос	[69]
Bobwhite (яра) Lona (яра)	Прекультивовані незрілі зародки	LBA4404 ENA105 C38C1 LBA9402	pBin9UG	Ubi1: gus	20 осередків/ калос	[69]
Baldus (яра)	21-добовий калос, отриманий із суцвіть	AGL1	pAL154-pAL156 pAL155-pAL156 pSoup-pAGL86	Ubi1: gus Ubi1: bar	14–64 осередки/ калос	[15]
Fielder (яра)	Прекультивовані незрілі зародки	AGL0	pTO134	CaMV35S:gfp CaMV35S:bar	1,8	[98]
Nongda 146 (яра)	Незрілі зародки; прекультивовані незрілі зародки	AGL1	pAL155/pAL156	Ubi1: gus Ubi1: bar	90 осередків/ калос	[45]
Sourav (яра) Gourav (яра) Kanchan (яра) Protiva (яра)	Незрілі зародки; зрілі зародки; калос, отриманий із незрілих зародків; калос, отриманий зі зрілих зародків	ENA105 LBA4404	pBI121 pCAMBIA1301	CaMV35S/gus nos/npt II	75–85 незрілих зародків; 60–65 зрілих зародків; 80–87 калосу, отриманого з незрілих зародків; 67–73 калосу, отриманого з зрілих зародків	[79]
BAU146 BAU170	Незрілі зародки; калос, отриманий із незрілих зародків	AGL1 ENA105 LBA4404	pCAMBIA1301 pBTAaB	Ubi1: gus Ubi1: bar	Не вказано	[95]
Bobwhite (яра)	Прекультивовані незрілі зародки; калос, отриманий із незрілих зародків	C58 (ABI)	pMON18365	CaMV35S:gus CaMV35S:npt II CaMV35S:atoA:CP4	3,1–10,5	[24]
CPAN1676 PBW343	Калос, отриманий зі зрілого насіння	LBA4404	pCAMBIA1301	CaMV35S:gus CaMV35S:bar	6,7–8,7	[25]

*Продовження таблиці*

Bobwhite (яра)	Прекультивовані незрілі зародки	C58C1	pPTN115	CaMV35S:gus CaMV35S:npt II	0,5–1,5	[35]
Bobwhite (яра)	Прекультивовані незрілі зародки	C58(ABI)	pMON30120 pMON30174 pMON30139	CaMV35S:aroA:CP4 SeBV: aroA:CP4 act1:aroA:CP4	4,4	[43]
Veery 5 (яра)	Калос, отриманий із незрілих зародків	LBA4404	pHK22 pHK21	Ubi1: gus Ubi1: bar	1,2–3,9	[46]
Bobwhite (яра)	Прекультивовані незрілі зародки; калос, отриманий із незрілих зародків	C58(ABI)	PV-TXGT10	act1:aroA:CP4 CaMV35S:aroA:CP4	Не вказано	[113]
Bobwhite (яра) Сапон Florida (озима) Cadelza (озима) Vesna	Незрілі зародки	AGL1	pAL154-156	Ubi1: gus Ubi1: bar	0,3–3,3	[102]
	“ “	LBA4404 AGL1	pТОК233 pDM805	CaMV35S:gus act1:gus ubi1:bar nos:npt II CaMV35S: hpt	0,13 LBA4404 0,41 AGL1	[58]
Коптея (озима) Торка (озима) Ета (озима)	“ “	AGL1 ЕНА101 LBA4404	pDM805 pGAH pТОК233	CaMV35S:gus act1:gus ubi1:bar nos:npt II CaMV35S:hpt	1,0 AGL1 0,2–8,1 ЕНА101 0,2–2,3 LBA4404	[72]
Нешенг 3 (озима) Уан 103 (озима) Уапиоу 361 (озима)	Калос, отриманий із незрілих зародків	GV3101	pROK2	CaMV35S:nptIII CaMV35S:AtNHX1	1,3–2,9	[105]

*Продовження таблиці*

Bobwhite (яра) Sakha 206 Yangmai 10 PM97034	Незрілі зародки	C58 (ABI) C58C1	pMP90, pPZP family	CaMV35S:nptII CaMV35S:gus	0,18–3,5	[27]
Yangmai 10	Калос, отриманий із незрілих зародків	C58C1	pSAMBIA3300	Ubi1:Waxy	Не вказано	[53]
Shanlong 9956069 (озима)	Калос, отриманий із незрілих зародків	LBA4404	pROK2	nos: npt II	1,18	[18]
Bobwhite (яра) Keimkangmil, Aichanmil	Зрілі зародки	KYRT1	pSAMBIA1305.1	CaMV35S:hpt	Не вказано	[37]
HD2329 (м'яка) CPAN1676 (м'яка) PBW343 (м'яка)	Зрілі зародки; калос, отриманий зі зрілих зародків	LBA4404	pBI101 pSAMBIA3300	act1:gus CaMV35S:gus nos: npt II CaMV35S:bar	1,28–1,77	[68]
Yan 361 (озима) Yan 2801 (озима)	Проростки	EH105	pBIG	CaMV35S:nptII	9,82	[111]
Shiranekomugi	"	LBA4404 M-21	pIG12IHm pBI-res pBI-res-2	CaMV35S:gus CaMV35S:hpt nos/npt II	33 (PCR) 75 (Southern) 40 (plasmid rescue)	[87]
En1 (озима)	"	LBA4404	Не вказано	CaMV35S:gus CaMV35S:nptII	3–31 осередок/ (GUS)	[106]
Yangmai 158 (озима)	Прекультивовані незрілі зародки	EH105	pSAMBIA3300	CaMV35S:bar	Не вказано	[108]
Certo (озима)	Незрілі зародки	LBA4404	pGB187	Ubi1:gfp CaMV35S:hpt	2–10	[40]

*Продовження таблиці*

Bobwhite (яра)	Незрілі зародки	Не вказано	pMON42071 pMON42072 pMON66350	act1:aroA:CP4 Zm.hsp70: aroA:CP4	2,8-5,7	[30]
EM12	Прекультуровані зрілі зародки	LBA4404	pBI121	CaMV35S:gus CaMV35S:nptII	0,025	[31]
Bobwhite (яра) Yumai 66 (озима) Lunxuan 208 (озима)	Зрілі зародки; прекультуровані зрілі зародки	C58C1	pUBiGN	nos: npt II Ubi1:gus	0,06 Yumai 66 0,67 Lunxuan208 0,89 Bobwhite	[96]
Stocus (яра)	Колосок	C58C1 AGL1	pDs (Hyg)35S pBECKStred	CaMV35S : Le/Cl nos/npt II nos/htp	0,44	[109]
Stocus (яра) Chinese spring (яра)	Генеративні органи	C58C1 AGL1	PBECKStred	CaMV35S : Le/Cl nos/npt II	0,3-0,6%	[11]
Inqlab-91 (м'яка)	Зрілі зародки	EHA101	pIG121Hm	CaMV35S:gus CaMV35S:hpt Nos:npt II	6,25-15,62	[75]
Gemniza 9 Gemniza 10	Калос, отриманий зі зрілих зародків	LBA4404	pBI121	CaMV35S:gus CaMV35S:nptII	6,9 Gemniza 9 8,7 Gemniza 10	[59]
Shakwa 197 Inqlab 91 Tartara 2000	Калос, отриманий зі зрілих зародків	EHA101	pTCL5	CaMV35S:gus CaMV35S:hpt CaMV35S:Ha21	Не вказано	[73]
CPAN 1676	Галлоїдний пилок	LBA4404	pSAMVIA3301	Act1:HVA1	Не вказано	[21]
GA-2002	Апикальні меристеми	LBA4404	pBI121	Nos:npt II CaMV35S:gus	Не вказано	[77]
CB037 Keping 199 Xinchun 9 Lunxuan 987 Shi 4185	Калос, отриманий із незрілих зародків	C58C1	pTN290	Ubi1:gus CaMV35S:nptII	0,058	[89]



*Продовження таблиці*

NB1	Проростки	ЕН105	pGBSSTP-EYFP	Sc4:nptII Act1:EGFP	5,6	[82]
HD2329	"	CV2260	P35SGUSINT	CaMV35S:gus CaMV35S:nptII	1,16	[26]
Kontesa, Torika	Прекультивовані незрілі зародки	ЕНА105	pCAMBIA1305.2 pGreenII0000	CaMV35S:gus CaMV35S:nptII CaMV35S:bar Nos:npt II Nos:bar	3,58 Kontesa 3,14 Torika	[20]
Bobwhite (яра)	Калос, отриманий із незрілих зародків	C58C1	pAM4424	CaMV35S:nptII AMTP:BLF	Не вказано	[36]
ND146 JM6358	Калос, отриманий із незрілих зародків	LBA4404	pBCSL16	CaMV35S:nia CaMV35S:nptII	1,68—ND146 0,40—JM6358	[112]
AARI-11 Aas-11 Dhurabi-11 Faisalabad-2008 Lasana-08 Millat-11 Pak-81 Punjab-11 Sahar-2006, Shafaq V-07096 V-08203 VPI-83	Калос, отриманий зі зрілих зародків	AGL1	pGA482	gus, nptII	Не вказано	[10]
Зимоярка (яра)	Калос із апікальних меристем пагонів	AGL0	pBi-OAT	CaMV35S:oat	1,5	[1,4]

Продовження таблиці

Зимоярка (яра)	Калос із апікальних меристем пагонів	AGL0	pB2E	CaMV35S: ProDH1	1,5	[2,3]
Подолянка (озима)	Генеративні органи	GV3101	pCB203	Nos:bar	15,6	[7]
Подолянка (озима)	Калос із апікальних меристем пагонів	GV3101	pCB203	Ubi1:gsus Nos:bar	1,8 (Подолянка) 1,6 (Зимоярка)	[6]
Зимоярка (яра)						
<i>Triticum turgidum</i>						
Durum (ofanto)	Проростки	AGL1	pAL156-pAL154 pAL156-pAL155	Ubi1:gsus Ubi1:bar	0,6-9,7 (pAL154) 2,1-3,9 (pAL155)	[100]
Durum (stewart)	Незрілі зародки	AGL1	pAL156-pAL154	Ubi1:gsus Ubi1:bar	2,8-6,3	[39]
Om Rabia3	Прекультивовані зрілі зародки	GV3101	pCAMBIA1391Z	Ubi1:gsus Ubi1:bar PtDHN-5:gsus	Не вказано	[14]
<i>Triticum dicoccum</i>						
DDK1001 DDK1009	Зрілі зародки; калос зі зрілих зародків	LBA4404	p35SGUSINT pB101	CaMV35S:gsus Act1:gsus Nos:npt II	Не вказано	[47]
DDK1001 (emmer)	Калос зі зрілих зародків	LBA4404	pCAMBIA3301	CaMV35S:gsus CaMV35S:bar	6,9	[25]

		Закінчення таблиці	
	<i>Triticum durum</i>		
PDW215 (pasta)	Зрілі зародки	LBA4404	pCAMBIA3301
			CaMV35S:gus CaMV35S:bar
		3	[93]
PDW215 (pasta) PDW233 (pasta) WH896	Зрілі зародки; калюс зі зрілих зародків	LBA4404	pВП101
			CaMV35S:gus Act1:gus Nos:npt II CaMV35S:bar
		1,28	[68]
Sohag 2	Колосок	LBA4404	pВ1-P5CS
			CaMV35S:gus CaMV35S:P5CS Nos:npt II
		0,9	[80]
PDW215	Проростки	LBA4404	pCAMBIA3301
			CaMV35S:bar
		0,84	[26]

ки [94], меристеми пагона [1–5, 7–9, 12].

До сьогодні основним типом експлантата для трансформації пшениці залишаються незрілі зародки, а саме незрілі щитки — спеціалізовані тканини, які утворюють частину зародка насіння. Рекомендовано використовувати зародки на 11–16-ту добу після запилення, розміром 0,8–1,5 мм [44].

Свіжовиділені або попередньо культивовані незрілі зародки та отримані з них калюс широко включені в експерименти для отримання трансгенних рослин пшениці (див. таблицю).

Першу успішну трансформацію пшениці здійснили Ченг і співавт. [23], скориставшись свіжоізольованими, попередньо прекультивованими незрілими зародками й ембріонними калюсами сорту Bobwhite, й отримали рослини T<sub>1</sub> з трансгенами *nptII* і *gus*. Пізніше було проведено багато спроб для підтвердження цих результатів [45, 57, 79, 91, 103], але стабільно трансгенних рослин не отримано. Тільки Вей і співавт. [98] підтвердили їх, скориставшись попередньо культивованими незрілими зародками віком 9 діб. Цей успіх проклав шлях для інших дослідників, які працюють із незрілими зародками пшениці сортів Veery 5 [46], Xinchun 9, PM97034, Yangmai 10, Sakha 206 [27], Yangmai 10 [53], Vesna [58] у різних експериментах для перенесення цільових генів.

Крім м'якої пшениці експлантатами слугували незрілі зародки твердої пшениці [100], де частота трансформації коливалась від 0,6 до 9,7 %.

Порівняно з незрілими зародками зрілі зародки розглядають як зручні експлантати для генетичної трансформації пшениці, оскільки вони доступні протягом усього року. Проте частота регенерації з калюсів, отриманих зі зрілих зародків багатьох сортів пшениці, дуже низька, що обмежує їх використання. Три різні сорти пшениці Lunxuan 987, Yumai 66 і Bobwhite були трансформовані з використанням штаму C58C1, частота трансформації становила 0,12—1,79 %. Зрілі зародки також успішно використані як експлантати в різних системах трансформації *T. durum* [31, 46, 93].

Пиляки слугують експлантатами переважно для отримання подвоєних гаплоїдів. Ген *hva1* ячменю успішно застосовано для трансформації з використанням культури гаплоїдів у системі пшениця × кукурудза. Ці трансгенні рослини виявилися ліпшими за посухостійкістю порівняно з нетрансгенними генотипами [21].

Як експлантат придатна також апікальна меристема вегетативних або репродуктивних органів [1—4; 6, 8, 9]. Із застосуванням експлантатів апікальних меристем пагонів тридобових проростків методом *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації в культурі *in vitro* та методом *in planta* отримано генетично модифіковані рослини м'якої пшениці з гетерологічним геном орнітин- $\delta$ -амінотрансферази [3, 4] та з дволанцюговим РНК-супресором гена проліндегідрогенази [2, 3], з підвищеним рівнем стійкості до водного дефіциту. Із калюсних культур, отриманих із цього ж типу експлантату, отримано трансгенні рослини пшениці, стійкі до гербіциду фосфінотрицину [6, 7]. Ген  $\beta$ -1,3-глюканази, перенесений у геном пшениці, забезпечив стійкість до борошнистої роси. Експлантатом слугувала базальна частина проростків [111].

Було використано також незрілі суцвіття, оскільки їх легше ізолювати, а роботу з ними можна проводити раніше, ніж із незрілими зародками. Втім ці експлантати виявилися генотипно специфічнішими до культури *in vitro* та регенерації [44]. Як первинний експлантат для трансформації досліджено і насіння [77, 87, 90, 106, 111], але тільки Супартана і співавт. [87] продемонстрували стабільну інтеграцію й успадкування генів у наступних поколіннях за використання методу Саузерн-блот гібридизації. Для *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації пшениці були протестовані інші первинні експлантати: зрілі зародки, свіжовиділені або прекультивовані, та отриманий із них калюс [31, 68, 76, 79, 93, 96], суцвіття та отриманий із них калюс [15], калюс, отриманий зі зрілого насіння [26]. Зрілі зародки мають низку переваг порівняно з незрілими (низька вартість, відсутність обмежень, пов'язаних зі стадією розвитку рослин, тоді як незрілі зародки треба брати з рослин у строго контрольованих умовах на обмеженій стадії розвитку — розміром 0,8—1,5 мм [100].

На початку 1990-х років трансгенні рослини пшениці було отримано шляхом інокуляції квіток *Agrobacterium* на етапі цвітіння або близько до нього [41, 52], проте в наступних поколіннях рослин цей ген не виявлявся. За тим же протоколом, але з іншими штамми *Agrobacterium* і плазмідними конструкціями, зануренням квіток досягнуто ефективної трансформації пшениці сортів Sawahel і Hassan [80].

Нещодавно Zale і співавтори [109] провели трансформацію на ранішій стадії розвитку квіток. Отримано успішну інтеграцію трансгенів та їх експресію, коли цільовими експлантатами слугували яйцеклітини.

**Штами *Agrobacterium*.** Зернові не є природними хазяїнами *Agrobacterium*, проте багато досліджень проведено на відповідність штамів генотипам пшениці [98]. На сьогодні для трансформації пшениці застосовують в основному тільки три штами *Agrobacterium tumefaciens*. Оpubліковано 41 статтю, в яких у 44 % використано LBA4404, у 24 % — C58C1, і у 24 % — AGL1. Інші штами застосовують рідше (10 %): A281, GV3101, ABI, EHA101, EHA105, AGL0, M-21, *A. rhizogenes* LBA9402 і Ar2626. Цікаво, що більшість із цих штамів *Agrobacterium* поділяють тільки на два хромосомні типи: C58 (C58C1, AGL1, GV3101, ABI, EHA101, EHA105, AGL0) і TiAch5 (LBA4404) [44].

У процесі інфікування *Agrobacterium* беруть участь кілька кодувальних генів хромосоми, задіяних у прикріпленні бактерій до клітин рослин, та *vir* гени Ti плазмідів, функція яких полягає в перенесенні, сприянні передачі та інтеграції T-ДНК у геном рослини [100]. Деякі з перелічених штамів містили також бінарні або хелперні плазмідів, які несли інші копії генів вірулентності. Отже, залежно від конструкції «стандартні» чи «низьковірулентні» штами (LBA4404, C58C1) або «гіпервірулентні» штами (AGL) були використані для успішної трансформації пшениці. Хоча й рідко, для дослідження пшениці як надійний маркер трансформації застосовують також деякі авірулентні (обеззброєні) мутантні штами *A. tumefaciens*. Наприклад, Супартана і співавт. [87] брали мутантний штам *Agrobacterium* M-21, в якому ген *iaaM* (ген триптофанмонооксигенази, що бере участь у біосинтезі індолілоцтової кислоти) в районі T-ДНК руйнується інсерцією транспозону 5 (Tp5), тому він здатний до інтеграції своїх T-ДНК у хромосоми рослин-хазяїнів, але гали при цьому не утворюються. Трансформанти пшениці, отримані з використанням штаму M-21, як і очікувалось, мали високий рівень синтезу цитокінінів (всі інші гени, в тому числі ген *ipt* — біосинтезу цитокінінів у районі T-ДНК — були цілі й повністю функціональні), в результаті значно змінювався фенотип через гормональний дисбаланс, що легко виявлялось.

Штами AGL0 і AGL1 розроблені так, щоб вони містили обеззброєну Ti-плазмідів рTiBo542 з додатковими генами вірулентності, які походять зі штаму *Agrobacterium* A281. У своїй онкогенній формі він має широкий спектр хазяїнів та індукує великі, швидко зростаючі пухлини. За використання цих штамів частота трансформації значно вища [46, 58]. Проте є деякі дослідження на пшениці, де високої частоти трансформації досягали без гіпервірулентної плазмідів [98, 103].

**Плазмідів і вірулентність.** Як уже зазначалося, пшениця не є природним хазяїном для *Agrobacterium*, тому лише деякі генотипи (наприклад, Bobwhite) можна трансформувати стандартними штамми, такими як LBA4404, і бінарними векторами. За використання інших генотипів успішної трансформації не отримано, лише зростала віру-

лентність штамів унаслідок введення додаткової бінарної плазмиди (наприклад, рНК21) з *vir* генами [46] для підвищення частоти трансформації.

Багато інших Ті векторів і хелперних плазмід, відомих як бінарні плазмиди, можна включати як додаткові копії генів вірулентності, зокрема «супербінарні» вектори були вбудовані в обраний штам *Agrobacterium* для підвищення вірулентності. Можливі комбінації від авірулентних до гіпервірулентних штамів *Agrobacterium*. Найпоширеніші штами *Agrobacterium* для трансформації пшениці належать до гіпервірулентної групи, так само як і обеззброєна плазмида рТiVo542 від дикого штаму A281 *A. tumefaciens* з додатковими генами вірулентності, зазвичай *vir* В, С і G, які надають характеру гіпервірулентності. Широко застосовують дві різні конструкції з додатковими *vir* районами: плазмиду рAL155, що є похідною від рSoup, модифікованою додаванням гена *vir* G [100], і низку різних плазмід (рAL154, рAL186 або рТОК233) з «фрагментом Komati», розміром 15 кб, що містить набір *vir* В, С і G [39, 72, 100, 101].

**Промотори.** Промотор визначає просторово-часовий спектр і рівень експресії трансгена, що знаходиться під його контролем. На сьогодні для трансформації однодольних рослин найчастіше використовують конститутивні CaMV35S (вірусу мозаїки цвітної капусти) і ubi1 (убіквітин кукурудзи). Інші промотори, такі як *act1* (промотор актину рису), *nos* (гена нопалінсинтази) чи ScBV (вірус паличкоподібного вірусу цукрової тростини) [43] застосовують значно рідше.

Останнім часом багато зусиль докладається для пошуку ефективніших промоторів. Тканиноспецифічна або регульована експресія трансгенів приваблива для запобігання втратам енергії, що витрачається рослиною на непотрібне накопичення трансгенного продукту, а також для запобігання його можливим побічним ефектам на рослину. На сьогодні в базі даних GenBank представлено більш як 500 нуклеотидних послідовностей промоторних районів різних генів пшениці. Близько 50 промоторів вже перевірені на функціональність в однодольних (пшениця, рис, ячмінь, кукурудза, жито) і дводольних (тютюн, арабідопсис, капуста, люцерна, огірок, томат, перець) видах. Важливо зазначити, що один і той самий промотор може забезпечувати різні патерни експресії трансгена в різних видах рослин.

Активність промоторів вивчають за допомогою репортерних генів. У трансгенній конструкції репортерний ген розміщений відразу за промотором, і кількість напрацьованого репортерним геном продукту корелює з активністю промотора. Як правило, при дослідженні активності промоторів пшениці використовують ген ферменту β-глюкуронідази з *Escherichia coli*, іноді ген зеленого флюоресцентного білка медузи GFP.

**Тканиноспецифічні промотори пшениці.** Ендосперм пшениці є головним джерелом енергії і білків для багатьох людей і домашніх тварин. Білки клейковини становлять близько 80 % білків борошна. Значна частина тканиноспецифічних промоторів пшениці належить генам запасних білків та інших білків насіння. Промотори генів, що кодують 1Dx5 і 1Vx17 субодиниці високомолекулярного запасного

білка глютеніну, виявляють специфічну активність в ендоспермі трансгенної пшениці [51, 64]. Короткий фрагмент промотора TaHMW Glu1Vx17 (173 пари основ — п.о.), пов'язаний з першим інтроном гена актину рису, має такий самий рівень експресії, як і довгий його фрагмент (1890 п.о.) без інтрона [64]. Генетична трансформація змінює склад зерна пшениці внаслідок експресії нових генів або зниження рівня небажаних білків.

Недоліком деяких білків клейковини, таких як  $\alpha$ - і  $\gamma$ -гліадини, є здатність пошкоджувати ворсинки тонкої кишки і призводити до захворювання на целіакію. Багато досліджень спрямовано на поліпшення якості зерна пшениці. Промотори  $\alpha$ - і  $\gamma$ -гліадинів можуть бути добрими кандидатами для зниження рівня небажаних гліадинів у пшениці, оскільки експресують в ендоспермі відповідні РНК, що не мають сенсу [70]. Білки пуроіндоліни PinA і PinB визначають текстуру й борошномельні якості зерна пшениці. Пуроіндоліни використано для зміни текстури зерна пшениці, рису, кукурудзи. У пшениці промотори пуроіндолінів активні тільки в ендоспермі [99]. У трансгенної пшениці й ячменю промотор TdPR60 виявляв найвищу активність у транспортних клітинах ендосперму, в рису він був активний всередині ендосперму на ранніх стадіях наливання зерна [50].

Промотори генів гістонів активні у тканинах меристем, їх можна використовувати для вивчення впливу на клітинний цикл мітогенів і стресів [19]. Сильну конститутивну активність промотора глутатіонтрансферази GstA1 у поєднанні з інтроном гена TaWIR11a спостерігали в епідермісі трансгенної пшениці та ячменю [13]. Специфічною активністю в епідермісі можна скористатися для експресії захисних білків, спрямованих проти атаки патогенів.

Кислі ґрунти знижують продуктивність рослин через високу концентрацію в них розчинних сполук алюмінію та інгібують ріст коренів. Стійкість пшениці до  $Al^{3+}$  корелює з експресією гена транспортера малату TaALMT1, який вивільнює аніони малату з кінчиків коренів. Аніони малату захищають чутливі зони росту коренів, зв'язуючись з  $Al^{3+}$  в апопласті. В результаті вивчення трансгенних рослин рису встановлено, що тандемно повторені елементи в алейних варіантах промоторів гена TaALMT1 посилюють експресію [78]. Це дослідження є прикладом того, як тандемні повтори в промоторних районах пов'язані з регулюванням транскрипції і фенотипними змінами в контексті еволюційної адаптації до основних абіотичних стресів.

*Індуковані промотори пшениці.* У пшениці виділено цілу низку промоторів, які індукуються під час стресу, зумовленого абіотичними й біотичними чинниками. Перевага цих промоторів перед тканинспецифічними полягає в тому, що вони активні лише в певний період часу після впливу індуктора. Активність індукованих промоторів залежить від дози індуктора і повертається до вихідного рівня після припинення його дії. Зміною кількості регулятора можна контролювати час та інтенсивність синтезу трансгена. Саме тому дослідники приділяють значну увагу вивченню промоторів пшениці,

чутливих до несприятливих умов середовища. Активність промотора гена оксалатоксидази *TaGermin* посилюється за впливу на проростки солей важких металів і механічних пошкоджень тканин [16]. Активність промотора *TaAIDF* підвищується за посухи, низьких температур, засолення, обробки абсцизовою кислотою [104]. Активність промоторів *Cor/Lea*-генів (cold-responsive/late-embryogenesis-abundant) *Wdhn113*, *Wrab1717*, *Wrab1818*, *Wrab1919* зростає за впливу холоду, посухи, абсцизової кислоти [48]. Активність промотора гена *Wcor1515* збільшується в листках за низьких температур виключно на світлі [88]. Промотор гена *12Wcs12120* індукується низькими температурами у зернових (пшениця, ячмінь, рис, жито), хрестоцвітних (капуста), бобових (люцерна), гарбузових (огірок) [66]. У результаті вивчення активності промотора *Wcs120* у великого числа видів з'ясувалося, що в однодольних і дводольних рослин існують транскрипційні фактори, здатні впізнавати *cis*-елементи гетерологічних промоторів, індукованих холодом. Використання промоторів генів *Cor/Lea* також може забезпечити експресію цільових генів за впливу на рослини низьких температур.

Значно менше досліджень присвячено вивченню промоторів пшениці, що відповідають за стійкість до патогенів. Лише два промотори — *TaGermini* і *TaPinA* — підвищували стійкість до вірусу тютюнової мозаїки й *Magnaporthe grisea* відповідно трансгенного тютюну і рису [32]. Промотори *PRPI* із *Triticum durum* активні в зав'язях трансгенних рослин пшениці та рису. Їх індукували за механічного пошкодження в листках, стеблах і зерні трансгенних рослин. Промотори *PRPI* придатні для специфічного накопичення білків, що підтримують стійкість до патогенів [49]. За фосфорного голодування промотори генів фосфатних транспортерів *PT2*, *PT2-1*, *PHT1.2* забезпечують підвищену експресію репортерного гена в коренях пшениці. Цукор, Fe, S, N, цитокінін і ауксин впливають на активність промотора *PHT1.2* [29]. Підвищення активності цих промоторів може сигналізувати про низький рівень фосфору. Індуковані промотори пшениці слугують інструментом для створення рослин-індикаторів навколишнього середовища і рослин, стійких до несприятливих абіотичних та біотичних впливів.

*Використання промоторів пшениці для напрацювання цільових продуктів.* Промотор глютеніну *TaLMWGlu1D1* (від -326 до +30) у комбінації з *Ubi-1* інтроном кукурудзи був використаний для напрацювання *LegA* субодиниці легуміну гороху в зернівці трансгенної пшениці. Продемонстровано успішний процесинг трансгенних поліпептидів та утворення *LegA* гексамерів *in vivo* [85]. З метою підвищення рівня каротиноїдів у зерні було створено трансгенну елітну пшеницю, в ендоспермі якої експресія гена фітоенсинтази кукурудзи *PSY11* відбувалася під контролем специфічного для ендосперму промотора пшениці *HMWGlu1Dx5* [28]. Для поліпшення засвоєння зерна тваринами було створено трансгенну пшеницю, що експресує в ендоспермі ендоксиланазу з *Bacillus subtilis* і естеразу ферулової кислоти з *Aspergillus niger* під контролем промотора *HMWGlu1Dx5* [38]. Промотори пшениці використовують для напра-



цювання їстівних вакцин у рослинах. Під контролем промотора TaHMWGlu1Bx17 було забезпечено високий рівень накопичення реагенту для діагностики вірусу HIV (0,56 % розчинного білка) і субодиниці В токсину холери (2,1 % розчинного білка) в ендоспермі ячменю і рису [65].

Промотори пшениці PRPI придатні як інструмент для підвищення стійкості до захворювань зернових культур [49]. Промотор GstA1 у комбінації з WIR1 інтроном успішно використали для підвищення стійкості зернових культур до патогенних грибів. Надекспресія пероксидази TaPERO в епідермісі пшениці під контролем промотора GstA1 підвищувала стійкість до борошнистої роси [81]. Отже, велику різноманітність промоторів пшениці, які експресуються в різних тканинах і за різних впливів, можна успішно використати для вирішення різних біотехнологічних завдань. Одне із завдань полягає у визначенні конкретних промоторів, які спрямовують експресію генів у тканинах специфічним чином. Це стосується не тільки репортерних генів у дослідженнях з оптимізації протоколів *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації, а й агрономічно важливих генів, зокрема тих, що забезпечують підвищення якості, стійкості до хвороб і посухи.

**Репортерні (маркерні) гени.** Початкові етапи генетичної трансформації включають доставку касети гена в клітини-реципієнти з подальшим аналізом експресії гена, що доставляється. Результати таких подій можна виявити аналізом експресії репортерного гена, введеного в культуру рослинних клітин або тканин. Репортерні гени виявляють видимий ефект прямо або опосередковано, що пов'язано з їх активністю в трансформованих клітинах. Аналіз експресії репортерних генів не потребує інтеграції трансгена в геном хазяїна, зазвичай його використовують для тестування промотора і функцій гена. Початкові дослідження з вбудовування чужорідної ДНК в пшеницю поклалися на використання гена (*cat*) — ферменту хлорамфеніколацетилтрансферази кишкової палички *E. coli*. Однак виявлення трансгена ферментативними й імунохімічними методами вимірювання *cat*-активності та кількості *cat*-білка відповідно було трудомісткою процедурою. Крім того, наявність інгібіторів активності *cat* та ендогенної активності ускладнило його використання як репортерного гена для пшениці. За наявності протоколу для швидкого аналізу активності β-глюкуронідази, яку кодує ген *gus* від *E. coli*, цей ген почали найширше використовувати як маркерний у трансформації пшениці. GUS гідролізує зв'язки β-глюкуроніду з утворенням продуктів реакції, які можна кількісно визначити спектрофотометрично або спектрофлуориметрично. GUS-система гена-репортера вкрай корисна для оптимізації параметрів генетичної трансформації у зв'язку з наявністю простої гістохімічної процедури виявлення. Одним з основних обмежень системи цього гена є деструктивний характер його аналізу.

Для вивчення введених трансгенів у живих клітинах успішно скористались життєво важливими генами-репортерами, що кодують біосинтез антоціанів, зелений флуоресцентний білок і ген люциферази світляків. Гени R із *Zea mays*, які стимулюють ендогенне накопи-

чення антоціанів у вакуолях рослинних тканин, корисні як маркери в зрілих і диференційованих клітинах. Через високу чутливість і легкість візуалізації гени R у трансформації пшениці застосовували різні групи науковців [57]. Синтетичний, спектрально змінений варіант зеленого флуоресцентного білка (GFP) з медузи — *Aequorea victoria* також слугував важливим маркером у трансформації пшениці [57]. Серед інших генів-маркерів ген люциферази від світляків *Photinus pyranus* успішно використано в стабільній трансформації пшениці [55]. Ген люциферази й модифіковані версії гена GFP дають змогу проводити неруйнівний (прижиттєвий) аналіз експресії трансгена, легко простежити долю введених трансгенів у зразках окремих тканин, сприяють швидшому оцінюванню і порівнянню різних процедур трансформації, дають цінну інформацію про умови, що впливають на ефективність ДНК інтеграції і стабільну експресію.

На сьогодні ці репортерні гени використовують для визначення експресії та (або) інтеграції чужорідної ДНК у пшеницю. Найчастіше застосовують ген *gusA* (*uidA*), що кодує фермент β-глюкуронідазу (GUS); *gfp*, що кодує зелений флуоресцентний білок [40], та ген *Lc/Cl* — регулятор біосинтезу антоціанів, що призводить до накопичення антоціанів і тому створює фенотип «червоної клітини» [109].

**Селективні гени.** Неоднакова частота доставки ДНК у клітини різних експлантатів потребувала розробки методів для ефективного відбору клітин, які несуть і експресують введені послідовності генів. Методи відбору трансформованих клітин ґрунтуються на експресії гена (селективного маркера), продукт якого надає стійкості до цитотоксичних речовин — часто антибіотика або гербіциду. Стійкість до антибіотиків і гербіцидів на сьогодні є найпоширенішою селективною системою для *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації пшениці. Як маркери селекції у трансформації пшениці найчастіше застосовують гени *bar* і *pat*. Обидва гени виділені з різних видів *Streptomyces*, кодують фосфінотрицинацетилтрансферази. Ці гени надають стійкості до фосфінотрицину і глюфосинату амонію — активних інгредієнтів гербіцидів баста і ліберті відповідно [74]. У трансформації пшениці використовують також бактеріальний ген неоміцинфосфоттрансферази II (*npt II*), що забезпечує стійкість до аміноглікозидів.

Гени стійкості до гербіцидів є альтернативою генам стійкості до антибіотиків і також слугують маркерами. Гени, що кодують 5-енолпірувілшикимат-3-фосфатсинтазу (EPSPS) — критичний фермент для біосинтезу ароматичних амінокислот, і фосфінотрицинацетилтрансферази (PAT), забезпечують толерантність відповідно до гербіцидів гліфосату і глюфосинату. Ген енолпірувілшикиматфосфатсинтази (*cp4*), виділений зі штаму CP4 *Agrobacterium*, і ген гліфосатоксидоредуктази (*gox*) також забезпечують толерантність до гліфосату шляхом його деградації до амінометилфосфорної кислоти і теж увійшли до списку селективних маркерів для пшениці.

Ген гігроміцинфосфоттрансферази (*hpt*) придатний як ефективний селективний маркер для досягнення стабільної генетичної трансформації у пшениці [63]. Його почали застосовувати [75, 109],

оскільки зернові до гігросцину чутливіші, ніж до канаміцину. Манозо-6-фосфатізомераза, яка кодується геном *manA* *E. coli*, також використана як селективний маркер, що дає змогу відбирати трансформанти, які ростуть на середовищі з манозою як єдиним джерелом вуглецю. Вікс та співавт. [97] повідомили про застосування гена ціанаміду гідратази (*Cah*) як селективного маркера для трансформації пшениці. Ген *Cah* надає трансформованим тканинам здатності рости на середовищі, що містить ціанамід, унаслідок перетворення ціанаміду на сечовину (яка може бути джерелом живлення). Останнім часом почали використовувати ген ацетолактатсинтази (*ALS*) [61], *AtMYB12* [34], а також ген *pmi* (фосфоманози ізомерази), який вважають маркером біологічної безпеки, він валідований у пшениці [86].

Отже, поліпшення пшениці генетичною трансформацією має величезний потенціал для задоволення постійно зростаючого попиту. Роботи з генетичної трансформації різних видів *Triticum* проводять в багатьох лабораторіях світу із залученням різних експлантатів і бінарних векторів, промоторів і генів, що беруть участь у відповіді на біотичні й абіотичні стресові чинники. Метод трансформації, опосередкований *Agrobacterium tumefaciens*, є найвідомішим, до нього часто вдаються для розробки трансгенних рослин в основному через такі переваги, як проста інтеграція, менша трудомісткість, економічна ефективність. На сьогодні досягнуто значного прогресу в успішному застосуванні цього методу трансформації однодольних рослин. За останні кілька років розроблено вдосконалені методики, що обходять культивування *in vitro* в процесі трансформації. Нині технологія рекомбінантної ДНК стала потужним інструментом для поліпшення продуктивності пшениці. Біотехнологія не тільки підвищує ефективність традиційних методів вирощування, а й відкриває двері для керування ключовими ознаками через генетичні маніпуляції. Відомо, що дикі родичі пшениці мають гени для поліпшення якісних характеристик цієї культури. Хоча деякі з них уже були інтегровані у геном пшениці для її генетичного поліпшення, однак зародкова плазма ні пшениці, ні її близьких родичів, ймовірно, не містить достатньої різноманітності генів, які знадобляться для задоволення майбутніх потреб. У зв'язку з цим слід розробити і вивчити нові методи і підходи, щоб інтегрувати корисні гени з будь-якого організму (рослини, тварини, мікроорганізму) й досягти істотного генетичного поліпшення цієї культури.

#### ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Бавол А.В., Дубровна О.В., Гончарук О.М., Воронова С.С. *Agrobacterium*-опосередкована трансформація м'якої пшениці з використанням калюсних культур. *Фактори експеримент. еволюції організмів*. 2014. 15. С. 16–19.
2. Воронова С.С., Бавол А.В., Дубровна О.В. Генетична трансформація *in planta* м'якої пшениці з використанням штаму AGLO, який містить рВі2Е з дволанцюговим РНК-супресором гена проліндегідрогенази. *Фактори експеримент. еволюції організмів*. 2015. 17. С. 126–130.

3. Воронова С.С., Гончарук О.М., Бавол А.В., Дубровная О.В. Генетическая трансформация мягкой пшеницы с использованием векторных конструкций, содержащих гены метаболизма пролина. *Вісник Укр. т-ва генетиків і селекціонерів*. 2015. **13**, № 1. С. 28–33.
4. Гончарук А.Н., Бавол А.В., Дубровна О.В. *Agrobacterium*-опосередкована трансформация in planta м'якої пшениці з використанням гена орнітинамінотрансферази. *Фактори експеримент. еволюції організмів*. 2015. **17**. С. 131–135.
5. Гончарук О.М., Бавол А.В., Моргун Б.В., Дубровна О.В. *Agrobacterium*-опосередкована трансформация м'якої пшениці шляхом інюкуляції базальної частини пагона. *Фактори експеримент. еволюції організмів*. 2013. **12**. С. 203–207.
6. Горбатюк І.Р., Бавол А.В., Банникова М.О., Моргун Б.В. *Agrobacterium*-опосередкована трансформация in planta пшениці м'якої озимого сорту Подолянка. *Вісник Харків. нац. ун-ту ім. В. Н. Каразіна*. Сер. Біологія. 2015. Вип. 24 (1153). С. 47–53.
7. Горбатюк І.Р., Щербак Н.Л., Банникова М.О., Великожон Л.Г., Кучук М.В., Моргун Б.В. Отримання трансгенних рослин пшениці м'якої сорту Зимоярка трансформациєю in vitro, стійких до гербіциду фосфіотрицину. *Физиология растений и генетика*. 2016. **48**, № 1. С. 65–74.
8. Дубровна О.В., Моргун Б.В., Бавол А.В. Біотехнології пшениці: клітинна селекція та генетична інженерія. Київ: Логос, 2014. 375 с.
9. Михальська С.І., Комісаренко А.Г., Тищенко О.М. Розробка методів *Agrobacterium*-опосередкованої трансформации пшениці. *Фактори експеримент. еволюції організмів*. 2015. **17**. С. 213–216.
10. Abid N., Maqbool A., Malik K. Screening commercial wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties for *Agrobacterium* mediated transformation ability. *Pakistan J. of Agricult. Sci.* 2014. **51**, N 1. P. 83–89.
11. Agarwal S., Loar S., Steber C., Zale J. Floral transformation of wheat. *Methods in Mol. Biol.* 2009. **478**. P. 105–113.
12. Ahmad A., Zhong H., Wang W., Sticklen M. Shoot apical meristem: in vitro regeneration and morphogenesis in wheat (*Triticum aestivum* L.). *In vitro Cellular Developmental Biology Plant*. 2002. **38**. P.163–167.
13. Altpeter F., Varshney A., Aderhalden O., Douchkov D., Sautter C., Kumlehn J., Dudler R., Schweizer P. Stable Expression of a Defense-Related Gene in Wheat Epidermis under Transcriptional Control of a Novel Promoter Confers Pathogen Resistance. *Plant. Mol. Biol.* 2005. **57**. P. 271–283.
14. Amar S., Safi H., Ayadi M., Azaza J., Khoudi H., Masmoudi K., Brini F. Analysis of the promoter activity of a wheat dehydrin gene (DHN-5) under various stress conditions. *Austral. J. of Crop Sci.* 2013. **7**, N 12. P. 1875–1883.
15. Amoah B., Wu H., Sparksand C., Jones H. Factors influencing *Agrobacterium*-mediated transient expression of uidA in wheat inflorescence tissue. *J. Exp. Bot.* 2001. **52**. P. 1135–1142.
16. Berna A., Bernier F. Regulation by Biotic and Abiotic Stress of a Wheat Germ in Gene Encoding Oxalate Oxidase, a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Producing Enzyme. *Plant Mol. Biol.* 1999. **39**. P. 539–549.
17. Bhalla P., Ottenhof H., Singh M. Wheat transformation an update of recent progress. *Euphytica*. 2006. **149**. P. 353–366.
18. Bi R., Jia H., Feng D., Wang H. Production and analysis of transgenic wheat (*Triticum aestivum* L.) with improved insect resistance by the introduction of cowpea trypsin inhibitor gene. *Euphytica*. 2006. **151**. P. 351–360.
19. Bilgin M., Dedeolu D., Omirulleh S., Peres A., Engler G., Inze D., Dudits D. Cell Division and S Phase-Dependent Activity of Wheat Histone H4 Promoter in Transgenic Maize Plants. *Plant Sci.* 1999. **143**. P. 35–44.
20. Binka A., Orczyk W., Nadolska-Orczyk A. The *Agrobacterium*-mediated transformation of common wheat (*Triticum aestivum* L.) and triticale (× *Triticosecale* Wittmack): role of the binary vector system and selection Cassettes. *J. of Appl. Gen.* 2012. **53**. P. 1–8.
21. Chauhan H., Khuran P. Use of doubled haploid technology for development of stable drought tolerant bread wheat (*Triticum aestivum* L.) transgenics. *Plant Biotechnol. J.* 2011. **9**. P. 408–417.

22. Chen D., Dale P. A comparison of methods for delivering DNA to wheat: the application of wheat dwarf virus DNA to seeds with exposed apical meristems. *Transgenic Res.* 1992. **1**. P. 93—100.
23. Cheng M., Fry J., Pang S., Zhou H., Hironaka C., Duncan D., Conner T., Wan Y. Genetic transformation of wheat mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. *Plant Physiol.* 1997. **115**. P. 971—980.
24. Cheng M., Hu N., Layton J., Liu C., Fry J. Desiccation of plant tissues post-*Agrobacterium* infection enhances T-DNA delivery and increases stable transformation efficiency in wheat. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant.* 2003. **39**. P. 595—604.
25. Chugh A., Khurana P. Herbicide-resistant transgenics of bread wheat (*T. aestivum*) and emmer wheat (*T. dicoccum*) by particle bombardment and *Agrobacterium*-mediated approaches. *Current Sci.* 2003. **84**. P. 78—83.
26. Chugh A., Vikrant A., Mahalakshmi A., Khurana P. A novel approach for *Agrobacterium*-mediated germ line transformation of Indian bread wheat (*Triticum aestivum*) and Pasta wheat (*Triticum durum*). *J of Phytol.* 2012. **4**, N 2. P. 22—29.
27. Clemente T., Mitra A. Genetic engineering of wheat: protocols and use to enhance stress tolerance. Genetically modified crops: their development, uses, and risks. New York: Haworth Press., 2005. P. 131—163.
28. Cong L., Wang C., Chen L., Liu H., Yang G., He G. Expression of Phytoene Synthase 1 and Carotene Desaturase *CrtI* Genes Result in an Increase in the Total Carotenoids Content in Transgenic Elite Wheat (*Triticum aestivum* L.). *J. Agricult. Food Chem.* 2009. **57**. P. 8652—8660.
29. Cui X., Zhang Y., Zhao F. et al. Molecular Characterization and Expression Analysis of Phosphate Transporter Gene *TaPT2-1* in Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Front. Agricult. China.* 2011. **5**. P. 274—283.
30. Dan Y., Armstrong C., Dong J., Feng X., Fry J.E., Keithly G.E., Martinell B.J. Lipoic acid — a unique plant transformation enhancer. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant.* 2009. **45**. P. 630—638.
31. Ding L., Li S., Gao J., Wang Y., Yang G., He G. Optimization of *Agrobacterium*-mediated transformation conditions in mature embryos of elite wheat. *Mol. Biol. Reports.* 2009. **36**. P. 29—36.
32. Evrard A., Meynard D., Guiderdoni E., Joudrier P., Gautier M.F. The Promoter of the Wheat Puroindoline-a Gene (*PinA*) Exhibits a More Complex Pattern of Activity Than That of the *PinB* Gene and Is Induced by Wounding and Pathogen Attack in Rice. *Planta.* 2007. **225**. P. 287—300.
33. Fellers J., Guenzi A., Taliaferro C. Factors affecting the establishment and maintenance of embryogenic callus and suspension cultures of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Cell Reports.* 1995. **15**. P. 232—237.
34. Gao X., Zhang L., Zhou S., Wang C., Deng X., Zhang H., Yang G., Javeed H., He G. AtMYB12 gene: a novel visible marker for wheat transformation. *Mol. Biol. Reports.* 2011. **38**. P. 183—190.
35. Haliloglu K., Baenziger P. *Agrobacterium tumefaciens*-mediated wheat transformation. *Cereal Research Commun.* 2003. **31**. P. 9—16.
36. Han J., Lakshman D., Galvez L., Mitra S., Mitra S., Baenziger P.S., Mitra A. Transgenic expression of lactoferrin imparts enhanced resistance to head blight of wheat caused by *Fusarium graminearum*. *BMC Plant Biol.* 2012. **12**. P. 23—33.
37. Han S., Oh P., Kim H. et al. Effects of antibiotics on suppression of *Agrobacterium tumefaciens* and plant regeneration from wheat embryo. *J. Crop Sci. Biotechnol.* 2006. **10**, N 2. P. 92—98.
38. Harholt J., Bach I., Lind-Bouquis S., Nunan K.J., Madrid S.M. Generation of Transgenic Wheat (*Triticum aestivum* L.) Accumulating Heterologous Endo-Xylanase or Ferulic Acid Esterase in the Endosperm. *Plant Biotechnol. J.* 2010, **8**. P. 351—362.
39. He Y., Jones H., Chen S., Chen X.M., Wang D.W., Li K.X., Wang D.S., Xia L.Q. *Agrobacterium*-mediated transformation of durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. durum cv Stewart) with improved efficiency. *J. Exp. Bot.* 2010. **61**. P. 1567—1581.
40. Hensel G., Kastner C., Oleszczuk S., Riechen J., Kumlehn J. *Agrobacterium*-mediated gene transfer to cereal crop plants: Current protocols for barley, wheat, triticale, and

- maize. *International J. of Plant Genomics*. 2009. ID 835608, doi: <http://dx.doi.org/10.1155/2009/835608>. P. 1–9
41. Hess D., Dressler K., Nimmrichter R. Transformation experiments by pipetting *Agrobacterium* into the spikelets of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Sci*. 1990. **72**. P. 233–244.
  42. Hiei Y., Ishida Y., Komari T. Progress of cereal transformation technology mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. *Frontiers in Plant Sci*. 2014. **5**. P. 1–11.
  43. Hu T., Metz S., Chay C., Zhou H.P., Biest N., Chen G., Cheng M., Feng X. *Agrobacterium*-mediated large-scale transformation of wheat (*Triticum aestivum* L.) using glyphosate selection. *Plant Cell Reports*. 2003. **21**. P. 1010–1019.
  44. Jones H., Doherty A., Wu H. Review of methodologies and a protocol for the *Agrobacterium*-mediated transformation of wheat. *Plant Methods*. 2005. **1**. P. 1–5.
  45. Ke X., McCormac A., Harvey A., Lonsdale D., Dong-Fang C., Malcolm C.E. Manipulation of discriminatory T-DNA delivery by *Agrobacterium* into cells of immature embryos of barley and wheat. *Euphytica*. 2002. **126**. P. 333–343.
  46. Khanna H., Daggard G. *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of wheat using a superbinary vector and a polyamine-supplemented regeneration medium. *Plant Cell Reports*. 2003. **21**. P. 429–436.
  47. Khurana J., Chugh A., Khurana P. Regeneration from mature and immature embryos and transient gene expression via *Agrobacterium*-mediated transformation in emmer wheat (*Triticum diccicum* Schuble). *Indian J. of Exp. Biol*. 2002. **40**. P. 1295–1303.
  48. Kobayashi F., Ishibashi M., Takumi S. Transcriptional Activation of *Cor/Lea* Genes and Increase in Abiotic Stress Tolerance through Expression of a Wheat *Dreb2* Homolog in Transgenic Tobacco. *Transgenic Res*. 2008. **17**. P. 755–767.
  49. Kovalchik N., Li M., Wittek F., Reid N., Singh R., Shirley N., Ismagul A. Defensin Promoters as Potential Tools for Engineering Disease Resistance in Cereal Grains. *Plant Biotechnol. J*. 2010. **8**. P. 47–64.
  50. Kovalchuk N., Smith J., Pallotta M., Singh R., Ismagul A., Eliby S., Bazanova N., Milligan A.S., Hrmova M., Langridge P., Lopato S. Characterization of the wheat endosperm transfer cell-specific protein TaPR60. *Plant. Mol. Biol*. 2009. **71**. P. 81–98.
  51. Lamacchia C., Shewry P., Di Fonzo N., Forsyth J.L., Harris N., Lazzeri P.A., Napier J.A., Halford N.G., Barcelo P. Endosperm-specific activity of a storage protein gene promoter in transgenic wheat seed. *J. Exp. Bot*. 2001. **52**. P. 243–250.
  52. Langridge P., Brettschneider R., Lazzeri P., Lorz H. Transformation of cereals via *Agrobacterium* and the pollen pathway: a critical assessment. *Plant J*. 2002. **2**. P. 631–638.
  53. Li J., Zhao W., Li O. et al. RNA silencing of *Waxy* gene results in low levels of amylose in the seeds of transgenic wheat (*Triticum aestivum* L.). *Acta Genetica Sinica*. 2005. **32**. P. 846–854.
  54. Liu W., Zheng M., Konzak C. Improving green plant production via isolated microspore culture in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Cell Reports*. 2002. **20**. P. 821–824.
  55. Lonsdale D., Lindup S., Moisan L., Harvey A. Using firefly luciferase to identify the transition from transient to stable expression in bombarded wheat scutellar tissue. *Physiologia Plantarum*. 1998. **102**. P. 447–453.
  56. Mahalakshmi A., Khurana P. *Agrobacterium*-mediated gene delivery in various tissues and genotypes of wheat (*Triticum aestivum* L.). *J. of Biochem. and Biotechnol*. 1995. **4**, N 2. P. 55–59.
  57. McCormac A., Wu H., Bao M., Wang Y., Xu R., Elliot M.C., Chen D.F. The use of visual marker genes as cell-specific reporters of *Agrobacterium*-mediated t-DNA delivery to wheat (*Triticum aestivum* L.) and barley (*Hordeum vulgare* L.). *Euphytica*. 1998. **99**. P. 17–25.
  58. Mitic N., Nikolic R., Ninkovic S. et al. *Agrobacterium*-mediated transformation and plant regeneration of *Triticum aestivum* L. *Biologia Plantarum*. 1998. **48**. P. 179–184.
  59. Moghaieb R., El-Arabi N., Momtaz O. et al. Genetic transformation of mature embryos of bread (*T. aestivum*) and pasta (*T. durum*) wheat genotypes. *GM Crops*. 2010. **1**, N 2. P. 87–93.
  60. Mooney P., Goodwin P., Dennis E., Llewellyn D. *Agrobacterium tumefaciens*-gene transfer into wheat tissues. *Plant Cell Tissue Organ Culture*. 1991. **25**. P. 209–218.

61. Ogawa T., Kawahigashi H., Toki S., Handa H. Efficient transformation of wheat by using a mutated rice acetolactate synthase gene as a selectable marker. *Plant Cell Reports*. 2008. **27**. P. 1325–1331.
62. Opabode J. *Agrobacterium*-mediated transformation of plants: emerging factors that influence efficiency. *Biotechnol. and Mol. Biol. Review*. 2006. **1**. P. 12–20.
63. Ortiz J., Reggiardo M., Ravizzini R., Altabe S.G., Cervigni G.D., Spitteler M.A., Morata M.M., Elias F.E., Vallejos R.H. Hygromycin resistance as an efficient selectable marker for wheat stable transformation. *Plant Cell Reports*. 1996. **15**. P. 877–881.
64. Oszvald M., Gardonyi M., Tamas C., Takacs J., Jenes B., Tamas L. Development and characterization of a chimaeric tissue-specific promoter in wheat and rice endosperm. *In Vitro Cell Dev. Biol. Plant*. 2008. **44**. P. 1–7.
65. Oszvald M., Kang T., Tomoskozi S., Yang M. Expression of cholera toxin B subunit in transgenic rice endosperm. *Mol. Biotechnol.* 2008. **40**. P. 261–268.
66. Ouellet F., Vazquez-Tello A., Sarhan F. The wheat *Wes120* promoter is cold-inducible in both monocotyledonous and dicotyledonous species. *FEBS Lett.* 1998. **423**. P. 324–328.
67. Patnaik D., Khurana P. Genetic transformation of Indian bread (*T. estivum*) and pasta (*T. durum*) wheat by particle bombardment of mature embryo-derived calli. *BMC Plant Biology*. 2003. **3**. P. 5–15.
68. Patnaik D., Vishnudasan D., Khurana P. *Agrobacterium*-mediated transformation of mature embryos of *Triticum aestivum* and *Triticum durum*. *Current Science*. 2006. **91**. P. 307–317.
69. Peters N., Ackerman S., Davis E. A modular vector for *Agrobacterium*-mediated transformation of wheat. *Plant Mol. Biol. Reporter*. 1999. **17**. P. 323–331.
70. Piston F., Marin S., Hernando A., Barro F. Analysis of the activity of a gamma-gliadin promoter in transgenic wheat and characterization of gliadin synthesis in wheat by MALDI-TOF during grain development. *Mol. Breed.* 2009. **23**. P. 655–667.
71. Potrykus I. Gene transfer to plants: assessment of published approaches and results. *Annual Rev. of Plant Physiol. and Plant Mol. Biol.* 1991. **42**. P. 205–225.
72. Przetakiewicz A., Karas A., Orczyk W., Nadolska-Orczyk A. *Agrobacterium*-mediated transformation of polyploid cereals: The efficiency of selection and transgene expression in wheat. *Cell and Mol. Biol. Lett.* 2004. **9**. P. 903–917.
73. Raja N., Bano A., Rashid H., Chaudhry Z., Ilyas N. Improving *Agrobacterium*-mediated transformation protocol for integration of *Xa21* gene in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Pakistan J. of Bot.* 2010. **42**, N 5. P. 3613–3631.
74. Rasco-Gaunt S., Riley A., Cannel M., Barcelo P., Lazzeri P. Procedures allowing the transformation of a range of European elite wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties via particle bombardment. *J. of Exp. Bot.* 2001. **52**. P. 865–874.
75. Rashid H., Afzal A., Khan M., Chaudhry Z., Malik S.A. Effect of bacterial culture density and acetosyringone concentration on *Agrobacterium* mediated transformation in wheat. *Pakistan J. of Bot.* 2010. **42**. P. 4183–4189.
76. Rashid U., Ali S., Ali G., Ayub N., Masood M. Establishment of an efficient callus induction and plant regeneration system in pakistani wheat (*Triticum aestivum*) cultivars. *Electronic J. of Biotechnol.* 2009. **12**. P. 4–5.
77. Razzaq A., Hafiz I., Mahmood I., Hussain A. Development of *in planta* transformation protocol for wheat. *African J. of Biotechnol.* 2011. **10**, N 5. P. 740–750.
78. Ryan P., Raman H., Gupta S., Sasaki T., Yamamoto Y., Delhaize E. The multiple origins of aluminium resistance in hexaploid wheat include *Aegilops tauschii* and more recent *cis* mutations to *TaALMT1*. *Plant J.* 2010. **64**. P. 446–455.
79. Sarker R., Biswas A. *In vitro* plantlet regeneration and *Agrobacterium*-mediated genetic transformation of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Tissue Culture*. 2002. **12**, N 2. P. 155–165.
80. Sawahel W., Hassan A. Generation of transgenic wheat plants producing high levels of the osmoprotectant proline. *Biotechnol. Letters*. 2002. **24**. P. 721–725.
81. Schweizer P. Tissue-specific expression of a defense-related peroxidase in transgenic wheat potentiates cell death in pathogen-attacked leaf epidermis. *Mol. Plant Pathol.* 2008. **9**. P. 45–57.
82. Shaw D., Gray J. Visualisation of stromules in transgenic wheat expressing a plastid-targeted yellow fluorescent protein. *Planta*. 2011. **233**. P. 961–970.

83. Shewry P.R. Wheat. *J. of Exp. Bot.* 2009. **60**, N 6. P. 1537–1553.
84. Sparks C., Doherty A., Jones H. Genetic transformation of wheat via *Agrobacterium*-mediated DNA delivery. *Methods Mol. Biol.* 2014. **1099**. P. 235–250.
85. Stoger E., Parker M., Christou P., Casey R. Pea legumin overexpressed in wheat endosperm assembles into an ordered paracrystalline matrix. *Plant Physiol.* 2001. **125**. P. 1732–1742.
86. Stoykova P., Stoeva-Popova P. PMI (manA) as a non antibiotic selectable marker gene in plant Biotechnology. *Plant Cell Tissue and Organ Culture.* 2011. **105**. P. 141–148.
87. Supartana P., Shimizu T., Nogawa M., Shioiri H., Nakajima T., Haramoto N., Nozue M., Kojima M. Development of simple and efficient *in planta* transformation method for wheat (*Triticum aestivum* L.) using *Agrobacterium tumefaciens*. *J. of Biosci. and Bioengineer.* 2006. **102**. P. 162–170.
88. Takumi S., Koike A., Nakata M., Kume S., Ohno R., Nakamura C. Cold-specific and light-stimulated expression of a wheat (*Triticum aestivum* L.) core gene *Wcor15* encoding a chloroplast-targeted protein. *J. Exp. Bot.* 2003. **54**. P. 2265–2274.
89. Tao L., Du L., Xu H., Ye X. Improvement of plant regeneration from immature embryos of wheat infected by *Agrobacterium tumefaciens*. *Agricult. Sci. in China.* 2011. **10**. P. 317–326.
90. Trick H., Finer J. SAAT: sonication-assisted *Agrobacterium*-mediated transformation. *Transgenic Res.* 1997. **6**. P. 329–336.
91. Uze M., Potrykus I., Sautter C. Factors influencing T-DNA transfer from *Agrobacterium* to precultured immature wheat embryos (*Triticum aestivum* L.). *Cereal Res. Commun.* 2000. **28**. P. 17–23.
92. Vasil I. Molecular genetic improvement of cereals: transgenic wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Cell Reports.* 2007. **26**. P. 1133–1154.
93. Vishnudasana D., Tripathi M., Rao U., Khurana P. Assessment of nematode resistance in wheat transgenic plants expressing potato proteinase inhibitor (*pin2*) gene. *Transgenic Res.* 2005. **14**. P. 665–675.
94. Wang C., Wei Z. Embryogenesis and regeneration of green plantlets from wheat (*Triticum aestivum*) leaf base. *Plant Cell Tissue and Organ Culture.* 2004. **77**. P. 149–156.
95. Wang Y., Xiao X., Zhang A. Factors affecting *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Acta Genetica Sinica.* 2002. **29**, N 3. P. 260–265.
96. Wang Y., Xu M., Yin G., Tao, L., Wang D., Ye X. Transgenic wheat plants derived from *Agrobacterium*-mediated transformation of mature embryo tissues. *Cereal Res. Commun.* 2009. **37**. P. 1–12.
97. Weeks J., Koshiyama K., Maier-Greiner U., Schaeffner T., Anderson O.D. Wheat transformation using cyanamide as a new selective agent. *Crop Sci.* 2000. **40**. P. 1749–1754.
98. Weir B., Gu X., Wang M., Upadhyaya N., Elliott A., Brettell R. *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of wheat using suspension cells as a model system and green fluorescent protein as a visual marker. *Functional Plant Biol.* 2001. **28**. P. 807–818.
99. Wiley P., Tosi P., Evrard A., Lovegrove A., Jones H.D., Shewry P.R. Promoter analysis and immunolocalization show that puroindolien genes are exclusively expressed in starchy endosperm cells of wheat grain. *Plant. Mol. Biol.* 2007. **64**. P. 125–136.
100. Wu H., Doherty A., Jones H. Efficient and rapid *Agrobacterium*-mediated genetic transformation of durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. *durum*) using additional virulence genes. *Transgenic Res.* 2008. **17**. P. 425–436.
101. Wu H., Doherty A., Jones H. *Agrobacterium*-mediated transformation of bread and durum wheat using freshly isolated immature embryos, In: Transgenic wheat, barley and oats. New York: Humana Press, 2009. P. 93–103.
102. Wu H., Sparks C., Amoah B., Jones H. Factors influencing successful *Agrobacterium*-mediated genetic transformation of wheat. *Plant Cell Reports.* 2003. **21**. P. 659–668.
103. Xia G., Li Z., He C., Chen H., Brettell R. Transgenic plant regeneration from wheat (*Triticum aestivum* L.) mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. *Acta Phytophysiol. Sinica.* 1999. **25**. P. 22–28.
104. Xu Z., Ni Z., Liu L., Nie L., Li L., Chen M., Ma Y. Characterization of the *TaAIDFa* gene encoding a CRT/DRE-binding factor responsive to drought, high-salt, and cold stress in wheat. *Mol. Gen. Genomics.* 2008. **280**. P. 497–508.



105. Xue Z., Zhi D., Xue G., Zhang H., Zhao Y.X., Xia G.M. Enhanced salt tolerance of transgenic wheat (*Triticum aestivum* L.) expressing a vacuolar Na/H antiporter gene with improved grain yields in saline soils in the field and a reduced level of leaf Na. *Plant Science*. 2004. **167**. P. 849–859.
106. Yang B., Ding L., Yao L., He G., Wang Y. Effect of seedling ages and inoculation durations with *Agrobacterium tumefaciens* on transformation frequency of the wheat wounded apical meristem. *Mol. Plant Breed*. 2008. **6**. P. 358–362.
107. Yao X., Li B., Jia J. A novel system for *Agrobacterium*-mediated transformation of wheat (*Triticum aestivum* L.) cells. *Cell Res*. 1993. **3**. P. 49–60.
108. Yu Y., Wei Z. Increased oriental armyworm and aphid resistance in transgenic wheat stably expressing *Bacillus thuringiensis* (Bt) endotoxin and *Pinellia ternate* agglutinin (PTA). *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 2008. **94**. P. 33–44.
109. Zale J., Agarwal S., Loar S., Steber C. Evidence for stable transformation of wheat by floral dip in *Agrobacterium tumefaciens*. *Plant Cell Reports*. 2009. **28**. P. 903–913.
110. Zale J., Borchardt-Wier H., Kidwell K., Steber C. Callus induction and plant regeneration from mature embryos of a diverse set of wheat genotypes. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 2004. **76**. P. 277–281.
111. Zhao T., Zhao S., Chen H., Zhao Q., Hu Z., Hou B., Xia G. Transgenic wheat progeny resistant to powdery mildew generated by *Agrobacterium* inoculum to the basal portion of wheat seedling. *Plant Cell Reports*. 2006. **25**. P. 1199–1204.
112. Zhao X., Nie X., Xiao X. Overexpression of a tobacco nitrate reductase gene in wheat (*Triticum aestivum* L.) increases seed protein content and weight without augmenting nitrogen supplying. *Plos One*. 2013. **8**, N 9. P. 746–778.
113. Zhou H., Berg J., Blank S., Chay C., Chen G., Eskelsen S. Field efficacy assessment of transgenic roundup ready wheat. *Crop Sci*. 2003. **43**. P. 1072–1075.

Отримано 14.05.2018

REFERENCES

1. Baval, A.V., Dubrovna, O.V., Goncharuk, O.M. & Voronova, S.S. (2014). *Agrobacterium*-mediated transformation of wheat using calli culture. *Faktyrny eksperymental'noi evoliucii orhanizmiv*, 15, pp. 16-19 [in Ukrainian].
2. Voronova, S.S., Baval, A.V. & Dubrovna, O.V. (2015). In planta genetic transformation of bread wheat, using AGLO strain, containing pBi2E with dsRNA suppressor of ProDH gene. *Faktyrny eksperymental'noi evoliucii orhanizmiv*, 17, pp. 126-130 [in Ukrainian].
3. Voronova, S.S., Goncharuk, O.M., Baval, A.V. & Dubrovna, O.V. (2015). Genetic transformation of bread wheat using vector constructs containing the genes of proline metabolism. *Visnyk ukrainskoho tovarystva henetykiv i selektsioneriv*, 13(1), pp. 28-33 [in Ukrainian].
4. Goncharuk, O.M., Baval, A.V. & Dubrovna, O.V. (2015). *Agrobacterium*-mediated transformation of wheat with ornithine-aminotransferase gene by an in planta method. *Faktyrny eksperymental'noi evoliucii orhanizmiv*, 17, pp. 131-135 [in Ukrainian].
5. Goncharuk, O.M., Baval, A.V., Morgun, B.V. & Dubrovna, O.V. (2013). *Agrobacterium*-mediated transformation of bread wheat by the inoculation of the basal part of the shoot. *Faktyrny eksperymental'noi evoliucii orhanizmiv*, 12, pp. 203-207 [in Ukrainian].
6. Gorbatiuk, I.R., Baval, A.V., Bannikova, M.O. & Morgun, B.V. (2015). *Agrobacterium*-mediated in planta transformation of bread winter wheat cv. Podolianka. *Visnyk Kharkivskoho nacionalnoho universytetu im. V.N. Karazina, Ser: Biol., Iss. 24 (1153)*, pp. 47-53 [in Ukrainian].
7. Gorbatiuk, I.R., Shcherbak, N.L., Bannikova, M.O., Velykozhon, L.H., Kuchuk, M.V. & Morgun, B.V. (2016). Establishing transgenic wheat plants of cv. Zymoyarka resistant to the herbicide phosphinothricin in vitro. *Fiziol. rast. genet*, 48, No. 1, pp. 65-74 [in Ukrainian].
8. Dubrovna, O.V., Morgun, B.V. & Baval, A.V. (2014). *Biotechnology of wheat: cell selection and genetic engineering*. Kyiv: Logos [in Ukrainian].
9. Mykhalska, S.I., Komisarenko, A.G. & Tishchenko, O.M. (2015). Development of methods *Agrobacterium*-mediated transformation of wheat. *Faktyrny eksperymental'noi evoliucii orhanizmiv*, 17, pp. 213-216 [in Ukrainian].

10. Abid, N., Maqbool, A. & Malik., K. (2014). Screening commercial wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties for *Agrobacterium* mediated transformation ability. *Pakistan J. of Agricult. Sci.*, 51, No. 1, pp. 83-89.
11. Agarwal, S., Loar, S., Steber, C. & Zale, J. (2009). Floral transformation of wheat. *Methods in Mol. Biol.*, 478, pp. 105-113.
12. Ahmad, A., Zhong, H., Wang, W. & Sticklen, M. (2002). Shoot apical meristem: in vitro regeneration and morphogenesis in wheat (*Triticum aestivum* L.). *In vitro Cellular Developmental Biology Plant*, 38, pp. 163-167.
13. Altpeter, F., Varshney, A., Abderhalden, O., Douchkov, D., Sautter, C., Kumlehn, J., Dudler, R. & Schweizer, P. (2005). Stable expression of a defense-related gene in wheat epidermis under transcriptional control of a novel promoter confers pathogen resistance. *Plant. Mol. Biol.*, 57, pp. 271-283.
14. Amar, S., Safi, H., Ayadi, M., Azaza, J., Khoudi, H., Masmoudi, K. & Brini, F. (2013). Analysis of the promoter activity of a wheat dehydrin gene (DHN-5) under various stress conditions. *Austral. J. of Crop Sci.*, 7, No. 12, pp. 1875-1883.
15. Amoah, B., Wu, H., Sparksand, C. & Jones, H. (2001). Factors influencing *Agrobacterium*-mediated transient expression of *uidA* in wheat inflorescence tissue. *J. of Exp. Bot.*, 52, pp. 1135-1142.
16. Berna, A. & Bernier, F. (1999). Regulation by biotic and abiotic stress of a wheat germ in gene encoding oxalate oxidase, a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-producing enzyme. *Plant Mol. Biol.*, 39, pp. 539-549.
17. Bhalla, P., Ottenhof, H. & Singh M. (2006). Wheat transformation an update of recent progress. *Euphytica*, 149, pp. 353-366.
18. Bi, R., Jia, H., Feng, D. & Wang, H. (2006). Production and analysis of transgenic wheat (*Triticum aestivum* L.) with improved insect resistance by the introduction of cowpea trypsin inhibitor gene. *Euphytica*, 151, pp. 351-360.
19. Bilgin, M., Dedeoglu, D., Omirulleh, S., Peres, A., Engler, G., Inze, D. & Dudits, D. Cell division and S phase-dependent activity of wheat histone H4 promoter in transgenic maize plants. *Plant Sci.*, 143, pp. 35-44.
20. Binka, A., Orczyk, W. & Nadolska-Orczyk, A. (2012). The *Agrobacterium*-mediated transformation of common wheat (*Triticum aestivum* L.) and triticale ( $\times$  *Triticosecale* Wittmack): role of the binary vector system and selection Cassettes. *J. of Appl. Gen.*, 53, pp.1-8.
21. Chauhan, H. & Khuran, P. (2011). Use of doubled haploid technology for development of stable drought tolerant bread wheat (*Triticum aestivum* L.) transgenics. *Plant Biotechnol. J.*, 9, pp. 408-417.
22. Chen, D. & Dale, P. (1992). A comparison of methods for delivering DNA to wheat: the application of wheat dwarf virus DNA to seeds with exposed apical meristems. *Transgenic Res.*, 1, pp. 93-100.
23. Cheng, M., Fry, J., Pang, S., Zhou, H., Hironaka, C., Duncan, D., Conner, T. & Wan, Y. (1997). Genetic transformation of wheat mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. *Plant Physiol.*, 115, pp. 971-980.
24. Cheng, M., Hu, N., Layton, J., Liu, C. & Fry, J. (2003). Desiccation of plant tissues post-*Agrobacterium* infection enhances T-DNA delivery and increases stable transformation efficiency in wheat. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 39, pp. 595-604.
25. Chugh, A. & Khurana, P. (2003). Herbicide-resistant transgenics of bread wheat (*T. aestivum*) and emmer wheat (*T. dicoccum*) by particle bombardment and *Agrobacterium*-mediated approaches. *Current Sci.*, 84, pp. 78-83.
26. Chugh, A., Vikrant, A., Mahalakshmi, A. & Khurana, P. (2012). A novel approach for *Agrobacterium*-mediated germ line transformation of Indian bread wheat (*Triticum aestivum*) and Pasta wheat (*Triticum durum*). *J. of Phytol.*, 4, No. 2, pp. 22-29.
27. Clemente, T. & Mitra, A. (2005). Genetic engineering of wheat: protocols and use to enhance stress tolerance. *Genetically modified crops: their development, uses, and risks*. New York: Haworth Press.
28. Cong, L., Wang, C., Chen, L., Liu, H., Yang, G. & He, G. (2009). Expression of phytoene synthase 1 and carotene desaturase *CrtI* genes result in an increase in the total carotenoids content in transgenic elite wheat (*Triticum aestivum* L.). *J. Agric. Food Chem.*, 57, pp. 8652-8660.

29. Cui, X., Zhang, Y., Zhao, F. et al. (2011). Molecular characterization and expression analysis of phosphate transporter gene TaPT2-1 in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Front. Agricult. China*, 5, pp. 274-283.
30. Dan, Y., Armstrong, C.L., Dong, J., Feng, X., Fry, J.E., Keithly, G.E. & Martinell, B.J. (2009). Lipoic acid—a unique plant transformation enhancer. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 45, pp. 630-638.
31. Ding, L., Li, S., Gao, J., Wang, Y., Yang, G. & He, G. (2009). Optimization of *Agrobacterium*-mediated transformation conditions in mature embryos of elite wheat. *Mol. Biol. Reports*, 36, pp. 29-36.
32. Evrard, A., Meynard, D., Guiderdoni, E., Joudrier, P. & Gautier, M.F. (2007). The Promoter of the wheat puroindoline-a gene (PinA) exhibits a more complex pattern of activity than that of the PinB gene and is induced by wounding and pathogen attack in rice. *Planta*, 225, pp. 287-300.
33. Fellers, J., Guenzi, A. & Taliaferro, C. (1995). Factors affecting the establishment and maintenance of embryogenic callus and suspension cultures of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Cell Reports*, 15, pp. 232-237.
34. Gao, X., Zhang, L., Zhou, S., Wang, C., Deng, X., Zhang, H., Yang, G., Javeed, H. & He, G. (2011). AtMYB12 gene: a novel visible marker for wheat transformation. *Mol. Biol. Reports*, 38, pp. 183-190.
35. Haliloglu, K. & Baenziger, P. (2003). *Agrobacterium tumefaciens*-mediated wheat transformation. *Cereal Research Commun.*, 31, pp. 9-16.
36. Han, J., Lakshman, D.K., Galvez, L.C., Mitra, S., Baenziger, P.S. & Mitra, A. (2012). Transgenic expression of lactoferrin imparts enhanced resistance to head blight of wheat caused by *Fusarium graminearum*. *BMC Plant Biol.*, 12, pp. 23-33.
37. Han, S., Oh, P., Kim, H. et al. (2006). Effects of antibiotics on suppression of *Agrobacterium tumefaciens* and plant regeneration from wheat embryo. *J. Crop Sci. Biotechnol.*, 10, No. 2, pp. 92-98.
38. Harholt, J., Bach, I.C., Lind-Bouquin, S., Nunan, K.J. & Madrid, S.M. (2010). Generation of transgenic wheat (*Triticum aestivum* L.) accumulating heterologous endoxylanase or ferulic acid esterase in the endosperm. *Plant Biotechnol. J.*, 8, pp. 351-362.
39. He, Y., Jones, H.D., Chen, S., Chen, X.M., Wang, D.W., Li, K.X., Wang, D.S. & Xia, L.Q. (2010). *Agrobacterium*-mediated transformation of durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. durum cv Stewart) with improved efficiency. *J. Exp. Bot.*, 61, pp. 1567-1581.
40. Hensel, G., Kastner, C., Oleszczuk, S., Riechen, J. & Kumlehn, J. (2009). *Agrobacterium*-mediated gene transfer to cereal crop plants: current protocols for barley, wheat, triticale, and maize. *Int. J. of Plant Genomics*, 2009, ID 835608, pp. 1-9. doi: <http://dx.doi.org/10.1155/2009/835608>-P-1-9.
41. Hess, D., Dressler, K. & Nimrichter, R. (1990). Transformation experiments by pipetting *Agrobacterium* into the spikelets of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Sci.*, 72, pp. 233-244.
42. Hiei, Y., Ishida, Y. & Komari, T. (2014). Progress of cereal transformation technology mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. *Frontiers in Plant Sci.*, 5, pp. 1-11.
43. Hu, T., Metz, S., Chay, C., Zhou, H.P., Biest, N., Chen, G., Cheng, M. & Feng, X. (2003). *Agrobacterium*-mediated large-scale transformation of wheat (*Triticum aestivum* L.) using glyphosate selection. *Plant Cell Reports*, 21, pp. 1010-1019.
44. Jones, H., Doherty, A. & Wu, H. (2005). Review of methodologies and a protocol for the *Agrobacterium*-mediated transformation of wheat. *Plant Methods*, 1, pp. 1-5.
45. Ke, X.-Y., McCormac, A.C., Harvey, A., Lonsdale, D., Dong-Fang, C. & Malcolm, C.E. (2002). Manipulation of discriminatory T-DNA delivery by *Agrobacterium* into cells of immature embryos of barley and wheat. *Euphytica*, 126, pp. 333-343.
46. Khanna, H. & Daggard, G. (2003). *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of wheat using a superbinary vector and a polyamine-supplemented regeneration medium. *Plant Cell Reports*, 21, pp. 429-436.
47. Khurana, J., Chugh, A. & Khurana, P. (2002). Regeneration from mature and immature embryos and transient gene expression via *Agrobacterium*-mediated transformation in emmer wheat (*Triticum dicoccum* Schuble). *Indian J. of Exp. Biol.*, 40, pp. 1295-1303.

48. Kobayashi, F., Ishibashi, M. & Takumi, S. (2008). Transcriptional activation of Cor/Lea genes and increase in abiotic stress tolerance through expression of a wheat Dreb2 homolog in transgenic tobacco. *Transgenic Res.*, 17, pp. 755-767.
49. Kovalchuk, N., Li, M., Wittek, F., Reid, N., Singh, R., Shirley, N., Ismagul, A., Eliby, S., Johnson, A., Milligan, A.S., Hrmova, M., Langridge, P. & Lopato, S. (2010). Defensin promoters as potential tools for engineering disease resistance in cereal grains. *Plant Biotechnol. J.*, 8, pp. 47-64.
50. Kovalchuk, N., Smith, J., Pallotta, M., Singh, R., Ismagul, A., Eliby, S., Bazanova, N., Milligan, A.S., Hrmova, M., Langridge, P. & Lopato, S. (2009). Characterization of the wheat endosperm transfer cell-specific protein TaPR60. *Plant. Mol. Biol.*, 71, pp. 81-98.
51. Lamacchia, C., Shewry, P.R., Di Fonzo, N., Forsyth, J.L., Harris, N., Lazzeri, P.A., Napier, J.A., Halford, N.G. & Barcelo, P. (2001). Endosperm-specific activity of a storage protein gene promoter in transgenic wheat seed. *J. Exp. Bot.*, 52, pp. 243-250.
52. Langridge, P., Brettschneider, R., Lazzeri, P. & Lorz, H. (2002). Transformation of cereals via *Agrobacterium* and the pollen pathway: a critical assessment. *Plant J.*, 2, pp. 631-638.
53. Li, J., Zhao W., Li O. et al. (2005). RNA silencing of Waxy gene results in low levels of amylose in the seeds of transgenic wheat (*Triticum aestivum* L.). *Acta Genetica Sinica*, 32, pp. 846-854.
54. Liu, W., Zheng, M. & Konzak, C. (2002). Improving green plant production via isolated microspore culture in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Cell Reports*, 20, pp. 821-824.
55. Lonsdale, D., Lindup, S., Moisan, L. & Harvey, A. (1998). Using firefly luciferase to identify the transition from transient to stable expression in bombarded wheat scutellar tissue. *Physiologia Plantarum*, 102, pp. 447-453.
56. Mahalakshmi, A. & Khurana, P. (1995). *Agrobacterium*-mediated gene delivery in various tissues and genotypes of wheat (*Triticum aestivum* L.). *J. of Biochem. and Biotechnol.*, 4, No. 2, pp. 55-59.
57. McCormac, A.C., Wu, H., Bao, M., Wang, Y., Xu, R., Elliot, M.C. & Chen, D.F. (1998). The use of visual marker genes as cell-specific reporters of *Agrobacterium*-mediated t-DNA delivery to wheat (*Triticum aestivum* L.) and barley (*Hordeum vulgare* L.). *Euphytica*, 99, pp. 17-25.
58. Mitic, N., Nikolic, R., Ninkovic, S. et al. (1998). *Agrobacterium*-mediated transformation and plant regeneration of *Triticum aestivum* L. *Biologia Plantarum*, 48, pp. 179-184.
59. Moghaieb, R., El-Arabi, N., Momtaz, O. et al. (2010). Genetic transformation of mature embryos of bread (*T. aestivum*) and pasta (*T. durum*) wheat genotypes. *GM Crops*, 1, No. 2, pp. 87-93.
60. Mooney, P., Goodwin, P., Dennis, E. & Llewellyn, D. (1991). *Agrobacterium tumefaciens*-gene transfer into wheat tissues. *Plant Cell Tissue Organ Culture*, 25, pp. 209-218.
61. Ogawa, T., Kawahigashi, H., Toki, S. & Handa, H. (2008). Efficient transformation of wheat by using a mutated rice acetolactate synthase gene as a selectable marker. *Plant Cell Reports*, 27, pp. 1325-1331.
62. Opabode, J. (2006). *Agrobacterium*-mediated transformation of plants: emerging factors that influence efficiency. *Biotechnol. and Mol. Biol. Review*, 1, pp.12-20.
63. Ortiz, J.P., Reggiardo, M.I., Ravizzini, R.A., Altabe, S.G., Cervigni, G.D., Spitteler, M.A., Morata, M.M., Elias, F.E. & Vallejos, R.H. (1996). Hygromycin resistance as an efficient selectable marker for wheat stable transformation. *Plant Cell Reports*, 15, pp. 877-881.
64. Oszvald, M., Gardonyi, M., Tamas, C., Takacs, J., Jenes, B. & Tamas, L. (2008). Development and characterization of a chimaeric tissue-specific promoter in wheat and rice endosperm. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant*, 44, pp. 1-7.
65. Oszvald, M., Kang, T., Tomoskozi, S. & Yang, M. (2008). Expression of cholera toxin B subunit in transgenic rice endosperm. *Mol. Biotechnol.*, 40, pp. 261-268.
66. Ouellet, F., Vazquez-Tello, A. & Sarhan, F. (1998). The wheat Wes120 promoter is cold-inducible in both Monocotyledonous and Dicotyledonous species. *FEBS Lett.*, 423, pp. 324-328.

67. Patnaik, D. & Khurana, P. (2003). Genetic transformation of Indian bread (*T. aestivum*) and pasta (*T. durum*) wheat by particle bombardment of mature embryo-derived calli. *BMC Plant Biol.*, 3, pp. 5-15.
68. Patnaik, D., Vishnudasana, D. & Khurana, P. (2006). Agrobacterium-mediated transformation of mature embryos of *Triticum aestivum* and *Triticum durum*. *Current Sci.*, 91, pp. 307-317.
69. Peters, N., Ackerman, S. & Davis, E. (1999). A modular vector for Agrobacterium mediated transformation of wheat. *Plant Mol. Biol. Reporter*, 17, pp. 323-331.
70. Piston, F., Marin, S., Hernando, A. & Barro, F. (2009). Analysis of the activity of a gamma-gliadin promoter in transgenic wheat and characterization of gliadin synthesis in wheat by MALDI-TOF during grain development. *Mol. Breed.*, 23, pp. 655-667.
71. Potrykus, I. (1991). Gene transfer to plants: assessment of published approaches and results. *Annual Rev. of Plant Physiol. and Plant Mol. Biol.*, 42, pp. 205-225.
72. Przetakiewicz, A., Karas, A., Orczyk, W. & Nadolska-Orczyk, A. (2004). Agrobacterium-mediated transformation of polyploid cereals: The efficiency of selection and transgene expression in wheat. *Cell and Mol. Biol. Lett.*, 9, pp. 903-917.
73. Raja, N., Bano, A., Rashid, H., Chaudhry, Z. & Ilyas, N. (2010). Improving Agrobacterium mediated transformation protocol for integration of Xa21 gene in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Pakistan J. of Bot.*, 42, No. 5, pp. 3613-3631.
74. Rasco-Gaunt, S., Riley, A., Cannel, M., Barcelo, P. & Lazzeri, P. (2001). Procedures allowing the transformation of a range of European elite wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties via particle bombardment. *J. of Exp. Bot.*, 52, pp. 865-874.
75. Rashid, H., Afzal, A., Khan, M.H., Chaudhry, Z. & Malik, S.A. (2010). Effect of bacterial culture density and acetosyringone concentration on Agrobacterium-mediated transformation in wheat. *Pakistan J. of Bot.*, 42, pp. 4183-4189.
76. Rashid, U., Ali, S., Ali, G., Ayub, N. & Masood, M. (2009). Establishment of an efficient callus induction and plant regeneration system in pakistani wheat (*Triticum aestivum*) cultivars. *Electronic J. of Biotechnol.*, 12, pp. 4-5.
77. Razzaq, A., Hafiz, I., Mahmood, I. & Hussain, A. (2011). Development of in planta transformation protocol for wheat. *African J. of Biotechnol.*, 10, No. 5, pp. 740-750.
78. Ryan, P.R., Raman, H., Gupta, S., Sasaki, T., Yamamoto, Y. & Delhaize, E. (2010). The multiple origins of aluminium resistance in hexaploid wheat include *Aegilops tauschii* and more recent cis mutations to TaALMT1. *Plant J.*, 64, pp. 446-455.
79. Sarker, R. & Biswas, A. (2002). In vitro plantlet regeneration and Agrobacterium-mediated genetic transformation of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Tissue Culture*, 12, No. 2, pp. 155-165.
80. Sawahel, W. & Hassan, A. (2002). Generation of transgenic wheat plants producing high levels of the osmoprotectant proline. *Biotechnol. Letters*, 24, pp. 721-725.
81. Schweizer, P. (2008). Tissue-specific expression of a defense-related peroxidase in transgenic wheat potentiates cell death in pathogen-attacked leaf epidermis. *Mol. Plant Pathol.*, 9, pp. 45-57.
82. Shaw, D. Gray, J. (2011). Visualisation of stromules in transgenic wheat expressing a plastid-targeted yellow fluorescent protein. *Planta*, 233, pp. 961-970.
83. Shewry, P.R. (2009). Wheat. *J. of Exp. Bot.*, 60, No. 6, pp. 1537-1553.
84. Sparks, C., Doherty, A. & Jones, H. (2014). Genetic transformation of wheat via Agrobacterium-mediated DNA delivery. *Methods Mol. Biol.*, 1099, pp. 235-250.
85. Stoger, E., Parker, M., Christou, P. & Casey, R. (2001). Pea legumin overexpressed in wheat endosperm assembles into an ordered paracrystalline matrix. *Plant Physiol.*, 125, pp. 1732-1742.
86. Stoykova, P. & Stoeva-Popova, P. (2011). PMI (manA) as a non antibiotic selectable marker gene in plant biotechnology. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 105, pp. 141-148.
87. Supartana, P., Shimizu, T., Nogawa, M., Shioiri, H., Nakajima, T., Haramoto, N., Nozue, M. & Kojima, M. (2006). Development of simple and efficient in planta transformation method for wheat (*Triticum aestivum* L.) using *Agrobacterium tumefaciens*. *J. of Biosci. and Bioengineer.*, 102, pp. 162-170.
88. Takumi, S., Koike, A., Nakata, M., Kume, S., Ohno, R. & Nakamura, C. (2003). Cold-specific and light-stimulated expression of a wheat (*Triticum aestivum* L.) core gene wcor15 encoding a chloroplast-targeted protein. *J. Exp. Bot.*, 54, pp. 2265-2274.

89. Tao, L., Du, L., Xu, H. & Ye, X. (2011). Improvement of plant regeneration from immature embryos of wheat infected by *Agrobacterium tumefaciens*. *Agricult. Sci. in China*, 10, pp. 317-326.
90. Trick, H. & Finer, J. (1997). SAAT: sonication-assisted *Agrobacterium*-mediated transformation. *Transgenic Res.*, 6, pp. 329-336.
91. Uze, M., Potrykus, I. & Sautter, C. (2000). Factors influencing T-DNA transfer from *Agrobacterium* to precultured immature wheat embryos (*Triticum aestivum* L.). *Cereal Res. Commun.*, 28, pp. 17-23.
92. Vasil, I. (2007). Molecular genetic improvement of cereals: transgenic wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Cell Reports*, 26, pp. 1133-1154.
93. Vishnudasana, D., Tripathi, M., Rao, U. & Khurana, P. (2005). Assessment of nematode resistance in wheat transgenic plants expressing potato proteinase inhibitor (pin2) gene. *Transgenic Res.*, 14, pp. 665-675.
94. Wang, C. & Wei, Z. (2004). Embryogenesis and regeneration of green plantlets from wheat (*Triticum aestivum*) leaf base. *Plant Cell Tissue & Organ Culture*, 77, pp. 149-156.
95. Wang, Y., Xiao, X. & Zhang, A. (2002). Factors affecting *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Acta Genetica Sinica*, 29, No. 3, pp. 260-265.
96. Wang, Y., Xu, M., Yin, G., Tao, L., Wang, D. & Ye X. (2009). Transgenic wheat plants derived from *Agrobacterium*-mediated transformation of mature embryo tissues. *Cereal Res. Commun.*, 37, pp. 1-12.
97. Weeks, J.T., Koshiyama, K.Y., Maier-Greiner, U., Schaeffner, T. & Anderson, O.D. (2000). Wheat transformation using cyanamide as a new selective agent. *Crop Sci.*, 40, pp. 1749-1754.
98. Weir, B., Gu, X., Wang, M., Upadhyaya, N., Elliott, A. & Brettell, R. (2001). *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of wheat using suspension cells as a model system and green fluorescent protein as a visual marker. *Functional Plant Biol.*, 28, pp. 807-818.
99. Wiley, P.R., Tosi, P., Evrard, A., Lovegrove, A., Jones, H.D. & Shewry, P.R. (2007). Promoter analysis and immunolocalization show that puroindolien genes are exclusively expressed in starchy endosperm cells of wheat grain. *Plant. Mol. Biol.*, 64, pp. 125-136.
100. Wu, H., Doherty, A. & Jones, H. (2008). Efficient and rapid *Agrobacterium*-mediated genetic transformation of durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. durum) using additional virulence genes. *Transgenic Res.*, 17, pp. 425-436.
101. Wu, H., Doherty, A. & Jones, H. (2009). *Agrobacterium*-mediated transformation of bread and durum wheat using freshly isolated immature embryos. In *Transgenic wheat, barley and oats (93-103)*, New York: Humana Press.
102. Wu, H., Sparks, C., Amoah, B. & Jones, H. (2003). Factors influencing successful *Agrobacterium*-mediated genetic transformation of wheat. *Plant Cell Reports*, 21, pp. 659-668.
103. Xia, G., Li, Z., He, C., Chen, H. & Brettell, R. (1999). Transgenic plant regeneration from wheat (*Triticum aestivum* L.) mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. *Acta Phytophysiol. Sinica*, 25, pp. 22-28.
104. Xu, Z., Ni, Z., Liu, L., Nie, L., Li, L., Chen, M. & Ma, Y. (2008). Characterization of the TaAIDFa gene encoding a CRT/DRE-binding factor responsive to drought, high-salt, and cold stress in wheat. *Mol. Gen. Genomics*, 280, pp. 497-508.
105. Xue, Z.Y., Zhi, D.Y., Xue, G.P., Zhang, H., Zhao, Y.X. & Xia, G.M. (2004). Enhanced salt tolerance of transgenic wheat (*Triticum aestivum* L.) expressing a vacuolar Na/H antiporter gene with improved grain yields in saline soils in the field and a reduced level of leaf Na. *Plant Sci.*, 167, pp. 849-859.
106. Yang, B., Ding, L., Yao, L., He, G. & Wang, Y. (2008). Effect of seedling ages and inoculation durations with *Agrobacterium tumefaciens* on transformation frequency of the wheat wounded apical meristem. *Mol. Plant Breed.*, 6, pp. 358-362.
107. Yao, X., Li, B. & Jia, J. (1993). A novel system for *Agrobacterium*-mediated transformation of wheat (*Triticum aestivum* L.) cells. *Cell Res.*, 3, pp. 49-60.
108. Yu, Y. & Wei, Z. (2008). Increased oriental armyworm and aphid resistance in transgenic wheat stably expressing *Bacillus thuringiensis* (Bt) endotoxin and *Pinellia ternate* agglutinin (PTA). *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 94, pp. 33-44.

109. Zale, J., Agarwal, S., Loar, S. & Steber, C. (2009). Evidence for stable transformation of wheat by floral dip in *Agrobacterium tumefaciens*. *Plant Cell Reports*, 28, pp. 903-913.
110. Zale, J., Borchardt-Wier, H., Kidwell, K. & Steber, C. (2004). Callus induction and plant regeneration from mature embryos of a diverse set of wheat genotypes. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 76, pp. 277-281.
111. Zhao, T., Zhao, S., Chen, H., Zhao, Q., Hu, Z., Hou, B. & Xia, G. (2006). Transgenic wheat progeny resistant to powdery mildew generated by *Agrobacterium* inoculum to the basal portion of wheat seedling. *Plant Cell Reports*, 25, pp. 1199-1204.
112. Zhao, X., Nie, X. & Xiao, X. (2013). Overexpression of a tobacco nitrate reductase gene in wheat (*Triticum aestivum* L.) increases seed protein content and weight without augmenting nitrogen supplying. *PloS one*, 8, No. 9, pp. 746-778.
113. Zhou, H., Berg, J., Blank, S., Chay, C., Chen, G. & Eskelsen, S. (2003). Field efficacy assessment of transgenic roundup ready wheat. *Crop Sci.*, 43, pp. 1072-1075.

Received 14.05.2018

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ *AGROBACTERIUM*-ОПОСРЕДОВАННОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ ПШЕНИЦЫ

*О.В. Дубровная, Б.В. Моргун*

Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины, Киев

В литературном обзоре проанализировано современное состояние исследований по генетической инженерии пшеницы, в частности *Agrobacterium*-опосредованной трансформации. Рассмотрены преимущества данного метода по сравнению с другими методами доставки гетерологичных генов. Обобщены сведения о факторах, влияющих на эффективность *Agrobacterium*-опосредованной трансформации: генотип растений, типы эксплантатов; штаммы *Agrobacterium*, векторные плазмиды, тканеспецифические и индуцированные промоторы, репортерные и селективные гены.

CURRENT STATUS OF RESEARCH ON *AGROBACTERIUM*-MEDIATED WHEAT TRANSFORMATION

*O.V. Dubrovna, B.V. Morgun*

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

In the review, the current status of research on the genetic engineering of wheat, in particular *Agrobacterium*-mediated transformation are analyzed. The advantages of this method in comparison with other methods of delivery of heterologous genes are considered. Data on some factors that influence the effectiveness of *Agrobacterium*-mediated transformation: genotype of plants, types of explants; strains of *Agrobacterium*, vector plasmids, tissue-specific and induced promoters, reporter and selective genes, are generalized.

*Key words:* *Triticum* L., *Agrobacterium*-mediated transformation.