

<https://doi.org/10.15407/dopovidi2019.07.097>

УДК 579.254.2:581.143.5

**В.В. Швартау, С.І. Михальська, Л.М. Михальська**

Інститут фізіології рослин і генетики НАН України, Київ

E-mail: VictorSchwartau@gmail.com

## **Зміни іоному генетично модифікованих рослин кукурудзи з дволанцюговим РНК-супресором гена проліндегідрогенази**

*Представлено членом-кореспондентом НАН України В.В. Швартау*

*Досліджено іоном трансгенних рослин кукурудзи з дволанцюговим (ds)РНК-супресором гена проліндегідрогенази, отриманих шляхом Agrobacterium-опосередкованої трансформації in planta рослин інбредної лінії 370 селекції Інституту фізіології рослин і генетики НАН України. Аналіз насіннєвого ТЗ-покоління рослин кукурудзи з частковою супресією активності проліндегідрогенази та підвищеною стійкістю до осмотичних стресів показав диференційні зміни окремих компонентів іоному: підвищення вмісту елементів Mg, Mn, Fe, Si і Mo на фоні зниження вмісту Ca, K та Na й істотне зниження рівня іонів важких металів: Ni, Ba, Cd, Sr. Зростання вмісту неорганічних складових редокс-компонентів — Mn, Si, Fe, за винятком Zn, є важливим для формування підвищеної осморезистентності. Можна передбачити, що кількісні зміни неорганічних компонентів редокс-систем у генетично модифікованих рослин можуть бути складовою підвищеної стійкості до осмотичного стресу. Підвищення осморезистентності кукурудзи уможливить впровадження систем мінерального живлення з високим рівнем засвоєння окремих іонів, які побудовані на зростанні локальних концентрацій окремих елементів та відрізняються підвищеним рівнем резистентності до нестачі вологи. Завдяки зниженню вмісту ряду важких металів стане можливим більш широко використовувати у системах живлення фосфорні добрива, які можуть бути небезпечними щодо забруднення ґрунтів та рослин важкими металами.*

**Ключові слова:** іоном, кукурудза, siРНК, осмотолерантність, трансгенез.

Поглибленому розумінню глобальної проблеми стресостійкості сприяє аналіз багатьох фізіолого-біохімічних процесів рослин, серед яких заслуговує на увагу один із його сучасних напрямків, пов'язаний із дослідженням іоному, який допомагає розумінню складних функціональних зв'язків між генами, білками, метаболітами та неорганічними іонами, що входять до складу іоному.

Іоном, згідно з D.E. Salt та співавт. [1], визначається як склад неорганічних елементів, переважно зольних, що наявні в організмі чи в його компартментах. Склад іоному в зернівках кукурудзи досліджується на усіх стадіях розвитку та визначається реалізацією генетичних програм розвитку і взаємодії організму з оточуючим середовищем [2].

© В.В. Швартау, С.І. Михальська, Л.М. Михальська, 2019

ISSN 1025-6415. Допов. Нац. акад. наук Укр. 2019. № 7

97

На даний час у світі ідентифіковано 118 елементів, 17 з яких визнано важливими для рослинного організму. Макроелементи необхідні у відносно значних кількостях (>0,1 % сухої маси), вони включають С, Н, О, N, S, Cl, P, Ca, K, Mg, B, Fe. Мікроелементи представлені в значно менших кількостях (<0,01 % сухої маси), до них належать Мо, Cu, Zn, Mn, Ni [2, 3].

Відомо, що ріст та розвиток рослин пов'язаний зі збалансованим постачанням біологічно важливих неорганічних елементів. У деяких таксонах суттєвими для процесів росту можуть бути Na, Co, Se та Si. Ряд елементів, зокрема Cd та As, не мають біологічного значення для рослин, більш того, вони є токсичними для їх переважної більшості. Важливо, що контролювання елементного складу може бути критичним не тільки для процесів росту та розвитку рослин, але й для харчування людини. В останні роки був досягнутий значний прогрес у розумінні ролі іоному та окремих його компонентів у результаті дослідження природних варіацій неорганічного елементного складу [2].

Підсумовуючи наведені вище дані зазначимо, що переважна більшість досліджень іоному виконана на модельному об'єкті *Arabidopsis thaliana* L. При цьому ряд елементів, як показників біологічної цінності харчових та кормових продуктів, досліджено і в культурних рослинах, зокрема зернових. Це насамперед стосується популяції рекомбінантних інбредних ліній кукурудзи B73 × Mo17 (IBM). Автори описали локуси кількісних ознак для характеристики іоному зернівок інбредних ліній *Zea mays* L., які культивували в різних регіонах США. Було встановлено 27 локусів QTL для 10 кількісних ознак [4].

Зміни у вмісті мікроелементів – складових редокс-гомеостазу рослин, розглядаються як фактор формування резистентності до дії ряду стресових чинників. Встановлено, що присутність гена *Gpc-B1* від *Triticum turgidum* ssp. *dicoccoides* у пшениці м'якої озимої зумовлює підвищення рівня накопичення важливих біологічно значущих елементів живлення – Fe, Zn, Mn, Cu, Se, а також Mg. Зважаючи на значення Fe, Zn, Mn, Cu та Se у редокс-гомеостазі, можна передбачити вищі посівні якості насіння зернових, які містять даний ген, а також підвищення резистентності рослин до збудників шкодочинних хвороб – *Fusarium* spp. тощо. Збагачення іонами Cu може сприяти формуванню сходів культур з підвищеним рівнем ефективності використання азоту [5].

Проте дані, що стосуються трансгенезу у кукурудзи, є обмеженими щодо його перебігу та ролі окремих неорганічних елементів. Відносно біотехнологічних рослин, то ми очікували, що за умов їх отримання шляхом *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації можуть відбуватися зміни компонентів іоному, як результат дії самого обеззброєного агробактеріального штаму та/або рекомбінантних молекул ДНК, що переважно інтегрують у транскрипційно активні області геному. Передбачається можливість впливу на вміст компонентів іоному і безпосередньо продукту експресії інтегрованих генів.

У зв'язку з вищесказаним ми ставили за мету проаналізувати іоном насіннєвого ТЗ-покоління біотехнологічних рослин кукурудзи з дволанцюговим РНК-супресором гена проліндегідрогенази.

**Матеріали та методи.** Об'єктом дослідження була інбредна лінія кукурудзи 370 селекції Інституту фізіології рослин і генетики НАН України.

*Agrobacterium*-опосередковану трансформацію проводили *in planta* частково модифікованим методом Чумакова [6]. Для генетичної трансформації використовували обеззброєний агробактеріальний штам LBA4404, який містить бінарний вектор pBi2E з длРНК-суп-

ресором гена проліндегідрогенази. Дволанцюговий РНК-супресор отриманий на основі фрагмента першого екзона гена арабідопсису, який розміщений як обернений повтор та включає фрагмент першого інтрона цього ж гена. Векторна конструкція люб'язно надана д-ром біол. наук А.В. Кочетовим (Інститут цитології і генетики Сибірського відділення РАН, Новосибірськ) та детально описана [7].

Інтеграцію рекомбінантних молекул ДНК аналізували ПЛР-методом за наявності фрагментів екзона та інтрона гена *ProDH1* арабідопсису і селективного гена неоміцинфосфотрансферази – *nptII*. Відсутність агробактеріальних домішок після генетичної трансформації визначали по гену *virD1* [8].

Вміст елементів у рослинному матеріалі визначали на мас-спектрометрі з індуктивно зв'язаною плазмою ICP-MS 7700x ("Agilent Technologies", США) та ICP-MS Mass Hunter WorkStation після озолення зразків (0,400 г) в азотній кислоті кваліфікації ICP-grade у мікрохвильовій системі пробопідготовки Milestone Start D. Усі розчини готували на воді 1-го класу (18 МОм), підготовленій у системі очищення Scholar-UV Nex Up 1000 ("Human Corporation", Корея).

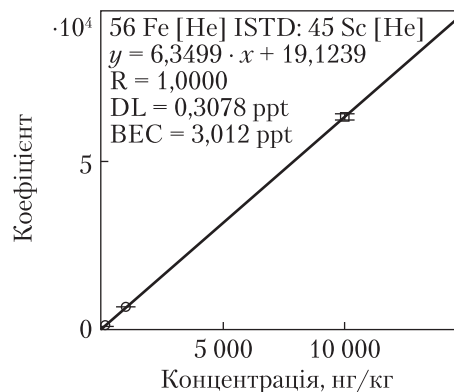
Розчини IV-ICPMS-71A для ICP-MS використані як зовнішні калібрувальні стандарти; внутрішній стандарт – 1 ppm Sc (обидва – "Inorganic Ventures", США).

Аналізи проводили у режимі продування гелієм для блокування утворення хибних піків за інтерференції елементів. Наприклад, 86 % Fe іонізується в аргоновій плазмі й не може бути коректно визначено звичайною мас-спектрометрією, тому що усі чотири ізотопи маскуються ізобаричною або поліатомною інтерференцією, наприклад  $^{56}\text{Fe} - ^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}$ ,  $^{40}\text{Ca}^{16}\text{O}$ ,  $^{57}\text{Fe} - ^{40}\text{Ar}^{16}\text{OH}$ ,  $^{40}\text{Ca}^{16}\text{OH}$ . Типовий калібрувальний графік у режимі продування гелієм наведено на рисунку. DL Fe (рівень детектування) становив 0,3 ppt.

Результати мас-спектрометрії оброблялися за допомогою ICP-MS Mass Hunter Software. Статистичний аналіз проводили у MS Excel 2019.

**Результати та їх обговорення.** Основою сучасного сільськогосподарського виробництва у світі та Україні є створення високопродуктивних сортів зернових культур з підвищеним рівнем стійкості до стресів, пов'язаних із водним дефіцитом. У вирішенні даного завдання значна увага приділяється сучасним біотехнологіям, які пов'язані з генетичним рівнем регуляції стійкості [9, 10].

На сьогодні відпрацьований механізм створення генетично модифікованих рослин, де генетична конструкція не містить трансгенів, які кодують білок. У такому випадку використовується феномен РНК-інтерференції, що дає змогу відключити або знизити активність одного з власних генів рослин. Для цього необхідний фрагмент ДНК поміщують у генетичну конструкцію в антисенсовій орієнтації або у формі оберненого повтору. Така конструкція синтезує РНК, яка нічого не кодує, але зв'язується з мРНК гена "мішені" і по механізму РНК-інтерференції запускає ряд реакцій, які зумовлюють зниження або повну зупинку експресії даного гена [11, 12].



Калібрувальна крива на  $^{56}\text{Fe}$  за визначення на ICP-MS Agilent 7700x у режимі продування гелієм

Слід зазначити, що даний напрям досліджень став можливим після відкриття А.Д. Hamilton і D.C. Vaulcombe коротких інтерферуючих РНК [13]. Вони формуються з більш протяжних попередників РНК, які створюють структуру паліндромів або обернених повторів. На даний час siРНК підрозділяють на декілька типів, зокрема *ra-siRNAs*, *pat-siRNAs*, *tasiRNA*, *hc-siRNAs*. Відзначимо, що біогенез коротких РНК складний та недостатньо досліджений, але доцільність цього напрямку робіт у генетично-інженерних технологіях доведена рядом авторів [7–12].

Отримані шляхом *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації *in planta* біотехнологічні рослини, які містять елементи дволанцюгового РНК-супресора гена проліндегідрогенази арабідопсису, характеризуються зниженою активністю ферменту проліндегідрогенази, збільшеним рівнем вільного L-проліну та підвищеною стійкістю рослин до осмотичних стресів. Передбачається, що у разі використання даної конструкції часткова супресія ендогенних генів проліндегідрогенази трансгенних рослин відбувається шляхом посттранскрипційного сайленсингу РНК за рахунок утворення коротких інтерферуючих siРНК.

За даними літератури, мікроRNAs (miRNA) можуть брати участь у регуляції процесів живлення в рослинах арабідопсису, пов'язаних, зокрема, з іонами Сu, Р, S [2, 3]. Можна передбачити, що й в трансгенних рослинах кукурудзи з дволанцюговим РНК-супресором гена проліндегідрогенази, в яких формувалися короткі РНК (siRNA), окремі елементи іоному можуть бути їх складовими, задіяними в цих процесах. На користь такого припущення свідчать встановлені нами зміни вмісту ряду елементів (таблиця).

**Вміст неорганічних елементів у насінні кукурудзи генетично модифікованих рослин лінії 370, мкг/кг**

Елемент	Ізотоп	Режим визначення	Час утримання, с	Контроль Л370	Л370 ЗМ
Na	23	Гелій	0,3	1648,6±5,1	1499,5±4,9
Mg	24	Гелій	0,3	258357,0 ± 3,8	275636,2±4,4
Al	27	Гелій	0,3	621,4 ± 7,4	425,2±2,0
K	39	Гелій	0,3	1193059,5 ± 4,8	856702,7 ± 5,9
Ca	43	Гелій	1,0	16590,8 ± 2,8	6290,2 ± 2,7
V	51	Гелій	0,3	0,9 ± 0,1	0,9 ± 0,2
Cr	52	Гелій	0,3	14,1 ± 7,6	13,9 ± 5,3
Mn	55	Гелій	0,3	1439,7 ± 3,7	1504,6 ± 3,1
Fe	56	Гелій	0,3	6116,9 ± 1,1	8222,4 ± 1,7
Co	59	Гелій	0,3	2,4 ± 0,7	1,7 ± 0,6
Ni	60	Гелій	0,3	438,9 ± 3,6	288,2 ± 4,6
Cu	63	Гелій	0,3	487,7 ± 1,4	968,9 ± 1,8
Zn	66	Гелій	0,3	9447,3 ± 7,3	9447,2 ± 4,9
Sr	88	Без газу	0,3	100,8 ± 4,4	68,3 ± 1,7
Mo	97	Без газу	0,3	56,8 ± 4,5	76,5 ± 5,9
Ba	135	Без газу	0,3	57,7 ± 8,6	27,6 ± 5,4
Cd	111	Без газу	1,0	52,04 ± 2,02	11,6 ± 1,2

Для стійкості рослин до засолення та водного дефіциту важливе значення має взаємовідношення іонів  $K^+$  і  $Na^+$ . Різке порушення іонного гомеостазу неорганічних елементів, що визначають осмотичний тиск у клітинах рослин та водного режиму, може спричинити руйнування клітинних компартментів. У природних умовах стійкі генотипи реалізують потенціал, що забезпечує збереження оптимального статусу. У разі використання в біотехнологічних маніпуляціях генів вакуолярного  $Na^+/H^+$  антипортера спостерігається підвищення стійкості рослин до засолення при взаємозв'язку іонів  $Ca^{2+}$ ,  $Na^+$  та  $K^+$  [14].

ІСР-MS аналіз за широким переліком неорганічних елементів показав, що у генетично змінених рослин простежується зниження вмісту фізіологічно необхідних іонів  $Ca^{2+}$  та  $K^+$ , відмічені зміни вмісту іонів  $Na^+$  зі статистично достовірним зростанням рівня Fe, Mn, Cu і Mo.

Важливим є те, що у проаналізованому нами насінні генетично зміненої кукурудзи спостерігалось зниження рівня Al та важких металів, а саме:  $Ni^{2+}$ ,  $Ba^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Sr^{2+}$ . При цьому, як вже говорилося вище, знижувався вміст інших двовалентних катіонів, зокрема  $Ca^{2+}$ . Ймовірно, це пов'язано з системами іонного транспорту, оскільки відомо, що катіони  $Ca^{2+}$  та  $Cd^{2+}$  мають загальні системи поглинання і перенесення через рівності їх іонних радіусів. Серед важких металів, які були нами досліджені, відзначимо також іон Ni, для якого було характерним зниження його концентрації в насінні кукурудзи з (ds)РНК-супресором гена проліндегідрогенази майже в 1,5 раза. Відомо, що з восьми нікелезалежних ферментів усі, крім гліоксилази I, задіяні в глобальному обміні вуглецю, азоту та кисню. Вірогідно, біологічна активність нікелю обумовлена його пластичністю в координаційній та редокс-хімії завдяки здатності проходити крізь три редокс-стани (1+, 2+, 3+) та каталізувати реакції в межах ~1,5 В.

Відзначимо також іон  $Zn^{2+}$ , який є мікроелементом, що бере участь у різноманітних фізіологічних процесах рослин. Надлишок цього елемента викликає прояви фітотоксичності в рослинах, які пов'язані, зокрема, зі зменшенням біомаси [15]. Встановлено, що вміст цинку, важливої складової редокс-гомеостазу зернових культур, у наших дослідах не змінювався.

Таким чином, аналіз насінневого ТЗ-покоління рослин кукурудзи з дволанцюговим (ds)РНК-супресором гена проліндегідрогенази, отриманих шляхом *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації *in planta* рослин інбредної лінії 370 селекції Інституту фізіології рослин і генетики НАН України, яким була властива підвищена осмостійкість, показав диференційні зміни окремих компонентів іоному, а саме: підвищення вмісту елементів Mg, Mn, Fe, Cu та Mo на фоні зниження вмісту Ca, K і Na й істотне зниження рівня накопичення іонів важких металів, а саме: Ni, Ba, Cd, Sr. Зростання вмісту неорганічних складових редокс-компонентів — Mn, Cu, Fe, за винятком Zn, є важливим для формування підвищеної осморезистентності.

Експериментальні дані свідчать про складні взаємопов'язані процеси формування іоному в генетично змінених рослин кукурудзи. Можна передбачити, що кількісні зміни неорганічних компонентів редокс-систем у генетично модифікованих рослин можуть бути складовою підвищеної осмотолерантності.

Підвищення осморезистентності кукурудзи уможливить впровадження систем мінерального живлення з високим рівнем засвоєння окремих іонів, які побудовані на зростанні локальних концентрацій окремих елементів та відрізняються підвищеним рівнем резистент-

ності до нестачі вологи. При цьому зниження вмісту ряду важких металів дасть змогу більш широко використовувати в системах живлення фосфорні добрива, які можуть бути небезпечними щодо забруднення ґрунтів та рослин важкими металами.

#### ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Salt D.E., Baxter I., Lahner B. Ionomics and the study of the plant ionome. *Annu. Rev. Plant Biol.* 2008. **59**. P. 709–733. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092942>
2. Baxter I., Dilkes B.P. Elemental profiles reflect plant adaptations to the environment. *Science*. 2012. **336**, Iss. 6089. P. 1661–1663. <https://doi.org/10.1126/science.1219992>
3. Williams L., Salt D.E. The plant ionome coming into focus. *Curr. Opin. Plant Biol.* 2009. **12**, № 3. P. 247–249. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2009.05.009>
4. Huang X.-Y., Salt D.E. Plant ionomics: From elemental profiling to environmental adaptation. *Mol. Plant.* 2016. **9**, Iss. 6. P. 787–797. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2016.05.003>
5. Pokhylko S. Yu., Schwartau V. V., Mykhalska L. M., Dugan O. M., Morgan B. V. ICP-MS analysis of bread wheat carrying the GPC-B1 gene of *Triticum turgidum* ssp. *dicoccoides*. *Biotechnologia acta*. 2016. **9**, № 5. P. 64–69. <https://doi.org/10.15407/biotech9.05.064>
6. Чумаков М.И., Рожок Н.А., Великов В.А., Тырнов В.С., Волохина И.В. Трансформация кукурузы путем инокуляции агробактериями пестичных нитей *in planta*. *Генетика*. 2006. **42**, № 8. С. 1083–1088.
7. Тищенко Е.Н., Комисаренко А.Г., Михальская С.И., Сергеева Л.Е., Адаменко Н.И., Моргун Б.В., Кочетов А.В. Agrobacterium-опосредованная трансформация подсолнечника (*Helianthus annuus* L.) *in vitro* и *in planta* с использованием штамма LBA4404, несущего плазмиду pBI2E с двухцепочечным РНК-супрессором гена пролиндегидрогеназы. *Цитология и генетика*. 2014. **48**, № 4. С. 19–30.
8. Михальская С.И., Сергеева Л.Е., Матвеева А.Ю., Коберник Н.И., Кочетов А.В., Тищенко Е.Н., Моргун В.В. Повышение содержания свободного пролина в осмотолерантных растениях кукурузы с двухцепочечным РНК-супрессором гена пролиндегидрогеназы. *Физиология растений и генетика*. 2014. **46**, № 6. С. 482–489.
9. Моргун Б.В., Тищенко Е.Н. Молекулярные биотехнологии по повышению устойчивости культурных злаков к осмотическим стрессам. Киев: Логос, 2014. 221 с.
10. Моргун В.В., Дубровна О.В., Моргун Б.В. Сучасні біотехнології отримання стійких до стресів рослин пшениці. *Физиология растений и генетика*. 2016. **48**, № 3. С. 196–214.
11. Brodersen P., Voinnet O. The diversity of RNA silencing pathways in plants. *Trends Genet.* 2006. **22**, № 5. P. 268–280.
12. Borsani O., Zhu J., Verslues E. P., Sunkar R., Zhu J.K. Endogenous siRNAs derived from a pair of natural cis-antisense transcripts regulate salt tolerance in Arabidopsis. *Cell*. 2005. **123**. P. 1279–1291.
13. Hamilton A.J., Baulcombe D.C. A species of small antisense RNA in posttranscriptional gene silencing in plants. *Science*. 1999. **286**, № 5441. P. 950–952.
14. Yin X.-Y., Yang A.-F., Zhang K.-W., Zhang J.-R. Production and analysis of transgenic maize with improved salt tolerance by the introduction of AtNHX1 gene. *Acta Bot. Sin.* 2004. **46**, № 7. P. 854–861.
15. Cakmak I. Enrichment of cereal grains with zinc: Agronomic or genetic biofortification? *Plant and Soil*. 2008. **302**, № 1. P. 1–17.

Надійшло до редакції 18.05.2019

#### REFERENCES

1. Salt, D. E., Baxter, I. & Lahner, B. (2008). Ionomics and the study of the plant ionome. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 59, pp. 709-733. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092942>
2. Baxter, I. & Dilkes, B. P. (2012). Elemental profiles reflect plant adaptations to the environment. *Science*, 336, Iss. 6089, pp. 1661-1663. <https://doi.org/10.1126/science.1219992>
3. Williams, L. & Salt, D. E. (2009). The plant ionome coming into focus. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 12, No. 3, pp. 247-249. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2009.05.009>
4. Huang, X.-Y. & Salt, D. E. (2016). Plant ionomics: From elemental profiling to environmental adaptation. *Mol. Plant.*, 9, Iss. 6, pp. 787-797. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2016.05.003>

5. Pokhylko, S. Yu., Schwartau, V. V., Mykhalska, L. M., Dugan, O. M., & Morgan, B. V. (2016). ICP-MS analysis of bread wheat carrying the GPC-B1 gene of *Triticum turgidum* ssp. *dicoccoides*. *Biotechnologia acta*, 9, No. 5, pp. 64-69. <https://doi.org/10.15407/biotech9.05.064>
6. Chumakov, M. I., Rozhok, N. A., Veliko, V. A., Tyrnov, V. S. & Volokhina, I. V. (2006). Agrobacterium-mediated in planta transformation of maize via pistil filaments. *Russ. J. Genet.*, 42, No. 8, pp. 893-897.
7. Tishchenko, O. M., Komisarenko, A. G., Mykhalska, S. I., Sergeeva, L. E., Adamenko, N. I., Morgun, B. V. & Kochetov, A. V. (2014). *Agrobacterium*-mediated sunflower transformation (*Helianthus annuus* L.) *in vitro* and *in planta* using strain of LBA4404 harboring binary vector pBi2E with dsRNA-suppressor proline dehydrogenase gene. *Tsitol. Genet.*, 48, No. 4, pp. 19-30 (in Russian).
8. Mykhalska, S. I., Sergeeva, L. E., Matveeva, A. Yu., Kobernyk, N. I., Kochetov, A. V., Tishchenko, O. M. & Morgun, V. V. (2014). The elevation of free proline content in osmotolerant transgenic corn plants with dsRNA suppressor of proline dehydrogenase gene. *Fiziologiya rastenii i genetika*, 46, No. 6, pp. 482-489 (in Russian).
9. Morgun, B. V. & Tishchenko, O. M. (2014). Molecular biotechnology to improve the sustainability of cultural cereals to osmotic stress. *Kyiv: Logos* (in Russian).
10. Morgun, V. V., Dubrovna, O. V. & Morgun, B. V. (2016). The modern biotechnologies of producing wheat plants resistant to stresses. *Fiziologiya rastenii i genetika*, 48, No. 3, pp. 196-214 (in Ukrainian).
11. Brodersen, P. & Voinnet O. (2006). The diversity of RNA silencing pathways in plants. *Trends Genet.*, 22, No. 5, pp. 268-280.
12. Borsani, O., Zhu, J., Verslues, P. E., Sunkar, R. & Zhu, J. K. (2005). Endogenous siRNAs derived from a pair of natural cis-antisense transcripts regulate salt tolerance in Arabidopsis. *Cell*, 123, pp. 1279-1291.
13. Hamilton, A. J. & Baulcombe, D. C. (1999). A species of small antisense RNA in posttranscriptional gene silencing in plants. *Science*, 286, No. 5441, pp. 950-952.
14. Yin, X.-Y., Yang, A.-F., Zhang, K.-W. & Zhang, J.-R. (2004). Production and analysis of transgenic maize with improved salt tolerance by the introduction of AtNHX1 gene. *Acta Bot. Sin.*, 46, No. 7, pp. 854-861.
15. Cakmak, I. (2008). Enrichment of cereal grains with zinc: Agronomic or genetic biofortification? *Plant and Soil*, 302, No. 1, pp. 1-17.

Received 18.05.2019

В.В. Швартау, С.И. Михальская, Л.Н. Михальская

Институт физиологии растений и генетики НАН Украины, Киев  
E-mail: VictorSchwartau@gmail.com

#### ИЗМЕНЕНИЯ ИОНОМА ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ РАСТЕНИЙ КУКУРУДЫ С ДВУХЦЕПОЧЕЧНЫМ РНК-СУПРЕССОРОМ ГЕНА ПРОЛИНДЕГИДРОГЕНАЗЫ

Исследован ионом трансгенных растений кукурудзы с двухцепочечным (ds)РНК-супресором гена пролиндегидрогеназы, полученных путем *Agrobacterium*-опосредованной трансформации *in planta* растений инбредной линии 370 селекции Института физиологии растений и генетики НАН Украины. Анализ семенного ТЗ-поколения растений кукурудзы с частичной супрессией активности пролиндегидрогеназы и повышенной устойчивостью к осмотическим стрессам показал дифференциальные изменения отдельных компонентов ионома: повышение содержания элементов Mg, Mn, Fe, Cu и Mo на фоне снижения содержания Ca, K, Na и значительное снижение уровня ионов тяжелых металлов: Ni, Ba, Cd, Sr. Повышение содержания неорганических составляющих редокс-компонентов — Mn, Cu, Fe, за исключением Zn, является важным для формирования повышенной осморезистентности. Можно прогнозировать, что количественные изменения неорганических компонентов редокс-систем в генетически модифицированных растениях могут быть составляющей повышенной устойчивости к осмотическому стрессу. Повышение осморезистентности кукурудзы позволит внедрять системы минерального питания с высоким уровнем усвоения отдельных ионов, которые построены на повышении локальных концентраций отдельных элементов и отличаются повышенным уровнем резистентности к дефициту влаги. Снижение содержания ряда тяжелых металлов позволит более широко использовать в системах питания фосфорные удобрения, которые могут быть небезопасными при загрязнении почв и растений тяжелыми металлами.

**Ключевые слова:** ионом, кукуруза, siРНК, осмотолерантность, трансгенез.

*V.V. Schwartau, S.I. Mykhalska, L.M. Mykhalska*

Institute of Plant Physiology and Genetics of the NAS of Ukraine, Kyiv

E-mail: VictorSchwartau@gmail.com

CHANGES IN THE IONOME OF GENETICALLY MODIFIED  
CORN PLANTS WITH DOUBLE-STRANDED RNA-SUPPRESSOR  
OF PROLINE DEHYDROGENASE GENE

The corn transgenic plant ionome with double-stranded (ds) RNA suppressor of the proline dehydrogenase gene obtained by the *Agrobacterium*-mediated transformation *in planta* plants of inbred line 370 of the Institute of Plant Physiology and Genetics NAS of Ukraine selection is studied. The analysis of seed T3 generation of corn plants with partial suppression of the activity of proline dehydrogenase and an increased resistance to the osmotic stress has shown differential changes of individual components of the ionome, namely: an increase in the content of Mg, Mn, Fe, Cu, and Mo, decreasing the content of Ca, K, and Na, and a significant reduction in the level of heavy metal ions: Ni, Ba, Cd, Sr. The growth of the content of the inorganic components of redox components, Mn, Cu, Fe, with the exception of Zn, is important for the formation of increased plant's osmoresistance. It can be predicted that quantitative changes in the inorganic components of redox systems in genetically modified plants may be part of the increased resistance to osmotic stress. Increasing the resistance of corn will allow the introduction of mineral nutrition systems with high levels of assimilation of individual ions, which are based on the growth in local concentrations of individual elements and are characterized by increased levels of resistance to a moisture deficit. Reducing the content of a number of heavy metals in plants will allow the more extensive use of phosphorus fertilizers in the systems of nutrition that can be dangerous for soils and plants through the contamination by heavy metals.

**Keywords:** *ionome, corn, siRNA, osmotolerance, transgenesis.*