

ИЗУЧЕНИЕ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ РАСТЕНИЙ

Научная статья

УДК 575.21:575.23:633.111.1

DOI: 10.30901/2227-8834-2022-3-9-16



Изучение влияния транскрипционного фактора OsGATA риса на толерантность пшеницы к солевому стрессу

А. А. Вербицкая¹, А. С. Егорова², Е. А. Царькова², А. К. Гапоненко²¹ Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова Российской академии наук, Москва, Россия² Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, Россия

Автор, ответственный за переписку: Анастасия Алексеевна Вербицкая, timoshenko.alekseevna@gmail.com

В данном исследовании показана возможность использования транскрипционного фактора риса OsGATA в трансгенных линиях продуктивных сортов пшеницы для повышения их толерантности к засолению, что подтверждено физиологическими и биохимическими методами по стандартным протоколам. Растения пшеницы выращивались в условиях искусственного климата при оптимальных условиях вегетации. Для введения гена *GATA* в геном используемых генотипов пшеницы были использованы методы генетической трансформации. Отбор трансгенных линий проводился на селективных средах в условиях *in vitro*.

Результаты экспериментальной работы показали, что экспрессия гена *GATA* при солевом стрессе, возможно, ответственна за повышенную компартментализацию Na⁺ в вакуоли, что обеспечивает улучшенную солевую толерантность. В результате исследований были изучены на солеустойчивость коллекции трансгенных линий T1 Zl.01, Zl.02, Zl.03 и Ag.02 мягкой яровой пшеницы сортов 'Злата', 'Эмир' и 'Агата'. Коллекции трансгенных линий T1, экспрессирующих ген *GATA*, были отобраны методом ПЦР. В условиях NaCl-засоления часть трансгенных линий показала статистически достоверное повышение устойчивости к засолению. Полученные результаты исследования заложили основу для изучения генов *GATA* в пшенице, для создания устойчивых к засолению линий без дефектов роста и снижения продуктивности.

Ключевые слова: солеустойчивость, генная инженерия, трансгенные линии, *GATA***Благодарности:** исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-316-90063.

Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы.

Для цитирования: Вербицкая А.А., Егорова А.С., Царькова Е.А., Гапоненко А.К. Изучение влияния транскрипционного фактора OsGATA риса на толерантность пшеницы к солевому стрессу. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2022;183(3):9-16. DOI: 10.30901/2227-8834-2022-3-9-16

STUDYING AND UTILIZATION OF PLANT GENETIC RESOURCES

Original article

DOI: 10.30901/2227-8834-2022-3-9-16

Studying the effect of the OsGATA rice transcription factor on salt stress tolerance in wheat**Anastasiia A. Verbitskaia¹, Anna S. Egorova², Elena A. Tsarkova², Alexander K. Gaponenko²**¹ Koltzov Institute of Developmental Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia² Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia**Corresponding author:** Anastasiia Alekseevna Verbitskaia, timoshenko.alekseevna@gmail.com

This study shows the possibility of using the OsGATA rice transcription factor in transgenic lines of high-yielding wheat cultivars to increase their tolerance to salinity, which was confirmed using physiological and biochemical methods according to standard protocols. Wheat plants were grown in an artificial climate under optimal growing conditions. Genetic transformation methods were used to introduce the *GATA* gene into the genome of the used wheat genotypes. Transgenic lines were selected on selective media under *in vitro* conditions.

The results of the experimental work showed that the expression of the *GATA* gene under salt stress may be responsible for the increased compartmentalization of Na⁺ in the vacuole, which provides improved salt tolerance. As a result of the experiment, collections of T1 transgenic wheat lines from cvs. 'Zlata', 'Emir' and 'Agata' expressing the *GATA* gene were obtained and studied for salt tolerance. Lines Zl.01, Zl.02, Zl.03 and Ag.02 were selected with PCR. Under NaCl salinity conditions, some of the transgenic lines showed a statistically significant increase in salinity resistance. The results of the study laid the foundation for studying *GATA* genes in wheat and for producing salinity-tolerant lines without growth defects or reduced productivity.

Keywords: salt tolerance, genetic engineering, transgenic lines, *GATA***Acknowledgements:** the study was funded by the Russian Foundation for Basic Research in the framework of Research Project No. 19-316-90063.

The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work.

For citation: Verbitskaia A.A., Egorova A.S., Tsarkova E.A., Gaponenko A.K. Studying the effect of the OsGATA rice transcription factor on salt stress tolerance in wheat. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2022;183(3):9-16. DOI: 10.30901/2227-8834-2022-3-9-16

Введение

Гены, кодирующие транскрипционные факторы, интересны тем, что выступают основными регуляторами клеточных процессов при различных стрессовых ситуациях, связываясь с цис-элементами промоторов генов, определяющих ответ растений на стрессы, индуцируют активацию или подавление транскрипции этих генов (Seki, Kamei, 2003). Семейство генов *GATA* является одним из наиболее консервативных семейств транскрипционных факторов, играющих значительную роль в различных аспектах клеточных процессов в организмах от грибов до покрытосеменных. Факторы транскрипции *GATA* представляют собой ДНК-связывающие белки, имеющие домен цинкового пальца IV типа $CX_2CX_{17-20}CX_2C$, за которым следует базовый регион, который связывает консенсусную последовательность WGATAR (Reyes et al., 2004; Gupta et al., 2017). У растений *GATA* TF еще недостаточно изучены, и знания об этом классе транскрипционных факторов остаются неполными. Первый раститель-

vit L.) отечественной селекции – ‘Амир’, ‘Агата’, ‘Злата’ и ‘Эстер’ (Московский НИИСХ «Немчиновка»).

Условия культивирования

Пшеничные зародыши культивировались при температуре от 22 до 25°C в темноте или на свету, с 16-часовым фотопериодом (16/8 – день/ночь). Для освещения использовались лампы F36W/33 Холодный белый и Osram L36/77 ФЛУОРА. Зародыши помещали на варианты среды для индукции каллусообразования по разработанному нами протоколу (Gaponenko et al., 2018).

Создание вектора. Используемый в работе ген транскрипционного фактора *OsGATA* под промотором 35S для экспрессии генов двудольных культур (рис. 1) был предоставлен сотрудниками лаборатории физиологии и молекулярной биологии стресса Университета Джавахарлала Неру (Jawaharlal Nehru University, New Mehrauli Road, JNU Ring Rd, Delhi 110067, Индия). Выделение плазмидной ДНК, рестрикцию, лигирование, электрофорез ДНК в агарозном геле делали по Т. Маниатис (Maniatis et al., 1984).

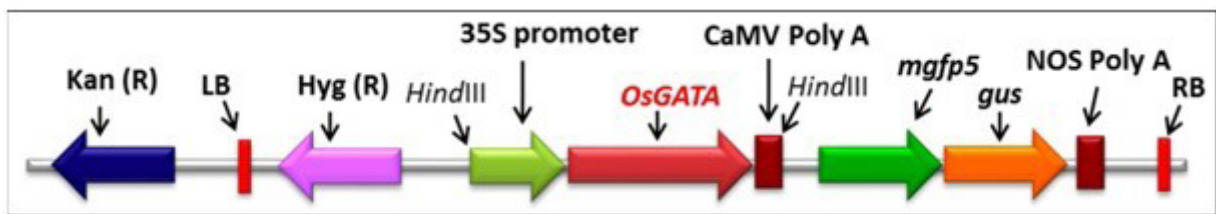


Рис. 1. Ген *GATA* транскрипционного фактора *OsGATA* в векторе экспрессии:

Кан (R) – ген устойчивости к канамицину; LB и RB – левая и правая граница T-ДНК; Hyg (R) – ген устойчивости к гиромоцину; CaMV 35S – промотор, конститутивный CaMV 35S-промотор; CaMV Poly A – сигнал полиаденилирования CaMV; NOS Poly A – терминатор гена нопалинсинтазы

Fig. 1. The *GATA* gene of the *OsGATA* transcription factor in the expression vector: Kan (R), kanamycin resistance gene; LB and RB, left and right T-DNA border; Hyg (R), hygromycin resistance gene; CaMV 35S promoter, constitutive CaMV 35S promoter; CaMV Poly A, polyadenylation signal; NOS Poly A – nopaline synthase gene terminator

ный фактор транскрипции *GATA* NTL1, идентифицированный из табака, является гомологом NIT-2 из *Neurospora crassa*, который участвует в метаболизме азота (Daniel-Vedele, Caboche, 2003). Недавние исследования, проведенные на других растениях, выявили участие факторов транскрипции *GATA* в регуляции различных генов, реагирующих на стресс, азотный обмен и цветение (An et al., 2020), онтогенез (Ravindran et al., 2017), иммунитет (Liu et al., 2020), передачу гормональных сигналов, таких как GA, ауксин и цитокинин (Lu et al., 2017; Nutan et al., 2020; Zhang et al., 2021).

Доказательство того, что экспрессия транскрипционных факторов семейства *GATA* повышает устойчивость пшеницы при различных абиотических стрессах, может разрешить проблему использования засоленных почв.

Цель исследования: биобаллистическая генетическая трансформация геном *GATA* для повышения толерантности к солевому стрессу у растений пшеницы.

Материалы и методы исследования

Растительный материал

База исследования: растения выращивали в условиях теплицы Института биологии развития имени Н.К. Кольцова РАН, в теплице отдела отдаленной гибридизации Главного ботанического сада имени Н.В. Цицина РАН и в оранжерее Института общей генетики имени Н.И. Вавилова РАН. Объекты исследования (растительный материал): сорта мягкой яровой пшеницы (*Triticum aesti-*

Для оптимизации экспрессии гена *GATA*, полученного в векторе экспрессии 35S::*OsGATA*, в растениях пшеницы промотор 35S CaMV заменили на промотор Act1 риса. Из плазмиды pBI-Act1:*OsGATA*:pA35 был получен вектор psAct*GATA*-BAR для баллистической трансформации, содержащий ген *GATA* под контролем промотора Act1, и касету экспрессии селективного гена устойчивости к гербициду BASTA. Создание вектора проводилось по стандартным протоколам.

Баллистическая трансформация

Для трансформации использовали сочетание двух плазмид pBI-Act1:*OsGATA*:pA35 и psGFP-BAR и вектор psAct*GATA*-BAR (Verbitskaya, 2021).

Электрофоретический анализ запасных белков – глиадинов

Глиадины извлекали из трансгенных линий и соответствующих сортов зерна 70-процентным раствором этилового спирта. Разделение молекул глиадина проводили в течение 2,5–3-х часов в электрическом поле при постоянном напряжении от 550 В и в буфере 5 мМ лактат алюминия. После выполнения электрофореза гели погружали на 15 мин в 300 мл 10-процентного раствора трихлоруксусной кислоты, а после этого окрашивали в 0,05-процентном спиртовом растворе кумасси бриллиантовым синим R-250, с добавлением 250 мл 10-процентной трихлоруксусной кислоты. Кроме анализируемых образцов также помещали в гель в качестве универсального стандартного маркера экстракты глиадинов из сорта ‘Безостая’.

Проверка устойчивости линий к засолению

Для проведения опытов на проверку толерантности растений в теплице Института биологии развития им. Н.К. Кошцаева РАН использовали косвенные методы оценки устойчивости трансгенных линий к хлоридному засолению. Проверка толерантности к засолению трансгенных линий проводилась в стерильных чашках Петри на фильтровальной бумаге, увлажненной дистиллированной водой или растворами солей NaCl в концентрациях 150 мМ и 300 мМ. Для анализа биомассы трансгенных линий использовали навеску свежей массы побегов растений, а взвешивания проводили стандартным весовым методом. В фазу молочно-восковой спелости зерна был проведен эксперимент по определению глюкозы в листьях (100 мг свежего веса) при помощи набора для анализа Megazyme в соответствии с инструкциями производителя. Содержание пролина у трансгенных линий проводили на спектрофотометре UV-1800 Shimadzu при длине волны 520 нм. Статистическую обработку данных проводили с использованием стандартных статистических методов в программе Excel. Для статистической обработки полученных расщеплений поколений трансгенных растений пшеницы по гену *bar* использовали χ^2 .

Результаты исследования

Побеги, прошедшие селективный отбор, анализировали с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) на наличие гена *bar* (рис. 2, А).

В результате анализа было показано, что 42 линии растений имеют ген *bar* и выбранная нами концентрация селективного агента оказалась достаточно эффективной, то есть лишь часть нетрансгенных клеток и тканей выживала за счет диффузии фермента ФАТ (из трансгенных клеток) и не повлияла существенно на отбор. Интересно, что из 42 имеющихся линий мягкой пшеницы 37 растений было получено при трансформа-

ции сочетанием двух плазмид pBI-Act1:OsGATA:pA35 и psGFP-BAR, а 5 линий – посредством плазмидного вектора psActOsGATA-BAR. Для дальнейших исследований использовали побеги, показавшие наличие гена *bar*, для обнаружения гена *GATA* методом ПЦР.

В результате анализа (табл. 1) было показано, что только в растениях, трансформированных плазмидным вектором psActGATA-BAR, было обнаружено наличие гена *GATA* в 5 линиях пшеницы (см. рис. 2, Б). Это может быть связано с тем, что селективный отбор был только на устойчивость к фосфинотрицину и растения, которые, возможно, имели ген *GATA*, в отсутствие гена *bar* погибли. Вектора pBI-Act1:OsGATA:pA35 и psGFP-BAR, использованные совместно, показали неэффективность в сравнении с psActGATA-BAR в доставке гена *GATA* при отборе трансформантов, устойчивых к гербициду BASTA. Из пяти растений было получено семенное потомство в условиях искусственного климата для дальнейшего анализа на наличие целевого и селективного гена в расщепляющемся потомстве T1. Растения поколения T1, полученные от трансформированных *in vitro* линий, были высажены на чашки Петри с селективным агентом – фосфинотрицином (prt) – для подтверждения экспрессии селективного гена. По признаку устойчивости к фосфинотрицину отобрали все 5 линий с расщеплением 3 : 1, что предполагает однолокусную интеграцию (табл. 2).

По 10 устойчивых к фосфинотрицину проростков T1 каждой линии проверили с помощью ПЦР на наличие генов *bar* и *GATA*. Устойчивость проростков этих линий к селективному агенту свидетельствует об экспрессии гена *bar*, входящего в состав перенесенной в растения вставки. Результаты молекулярного анализа растений линий Zl.01, Zl.03 и Ag.02 указывают на наличие полной трансгенной вставки (рис. 3, А).

В результате анализов ПЦР были отобраны линии для оценки экспрессии целевого гена методом ОТ-ПЦР – Zl.01, Zl.02, Zl.03 и Ag.02. Для проведения ОТ-ПЦР (рис. 3, Б)

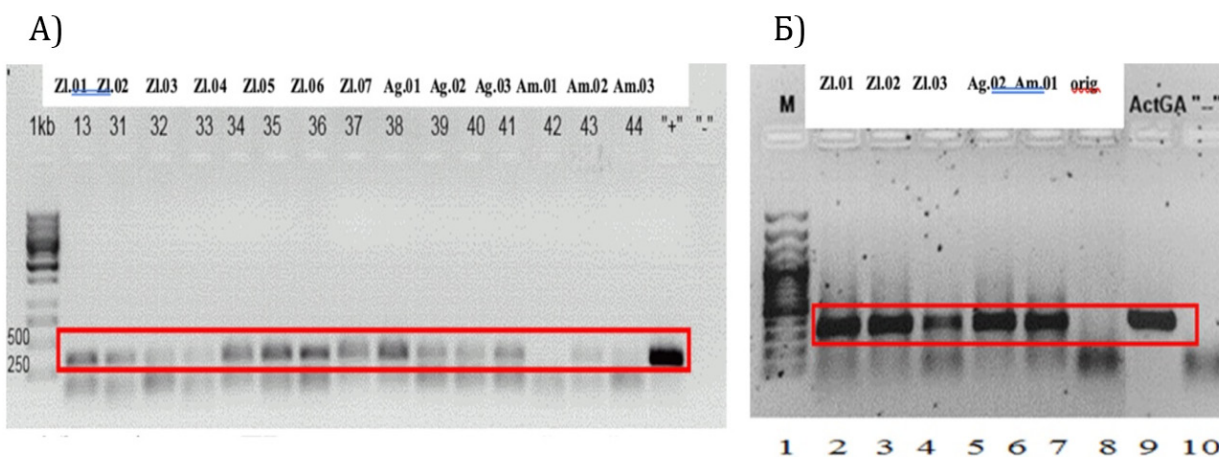


Рис. 2. А) Электрофореграмма ПЦР-анализа трансгенных растений мягкой пшеницы по гену *bar*:

1 MWMarker, 13–44 – анализируемые образцы, «+» – плазмидная ДНК psGFP-BAR 432 п.н., «-» – негативный контроль;

Б) Анализ наличия гена *GATA* в регенерантах пшеницы: 1 – маркер размера, 2–7 – ДНК из регенерантов пшеницы, 8 – ДНК исходных растений, 9 – плазмидная ДНК pAct1:OsGATA – праймеры G2+G3 398 н.п., 10 – реакционная смесь без добавления ДНК

Fig. 2. А) Electrophoregram of PCR analysis of transgenic bread wheat plants for the *bar* gene: 1 MWMarker, 13–44 analyzed samples, “+” – 432 bp psGFP-BAR plasmid DNA, “-” – negative control;

Б) Analysis of the presence of the *GATA* gene in wheat regenerants: 1 – size marker; 2–7 – DNA from wheat regenerants, reaction mixture without added DNA, 8 – DNA of initial plants, 9 – plasmid DNA pAct1:OsGATA – primers G2+G3 398 bp, 10 – reaction mixture without addition of DNA

Таблица 1. Результаты экспериментов по получению трансгенных растений, несущих гены *bar*, *GATA*
Table 1. Results of experiments on obtaining transgenic plants carrying *bar* and *GATA* genes

Вектор	Сорт	Отбор по GFP (шт.)/%	Отбор по Bar (шт.)/%	ПЦР-BAR+ (шт.)/%	ПЦР-GATA+ (шт.)/%
pBl-GATA+psGFP-BAR	Злата	95/31,61 ± 3,85	18/6	18/6	-
	Агата	44/14,67 ± 2,33	12/4	12/4	-
	Амир	30/10 ± 1,85	7/2,3	7/2,3	-
pAct-GATA-BAR	Злата	-	4/1,3	3/1	3/1
	Агата	-	2/0,6	1/0,3	1/0,3
	Амир	-	1/0,3	1/0,3	1/0,3

Таблица 2. Расщепление поколения T1 по признаку устойчивости к фосфинотрицину (ppt)
Table 2. Cleavage of the T1 generation based on resistance to phosphinothricin (ppt)

Сорт	№ линии	Всего семян, шт.	ppt+, шт.	Ppt-, шт.	H ₀ факт.	H ₀ теор.	χ ² факт.	χ ² теор.
Злата	Zl.01	34	23	11	2,1:1	3:1	0,0057	3,84
Злата	Zl.02	33	25	8	3,1:1	3:1	0,41	3,84
Злата	Zl.03	36	25	9	2,7:1	3:1	0,04	3,84
Агата	Ag.02	38	28	10	2,8:1	3:1	0,243	3,84
Амир	Am.01	29	21	8	2,6:1	3:1	0,14	3,84

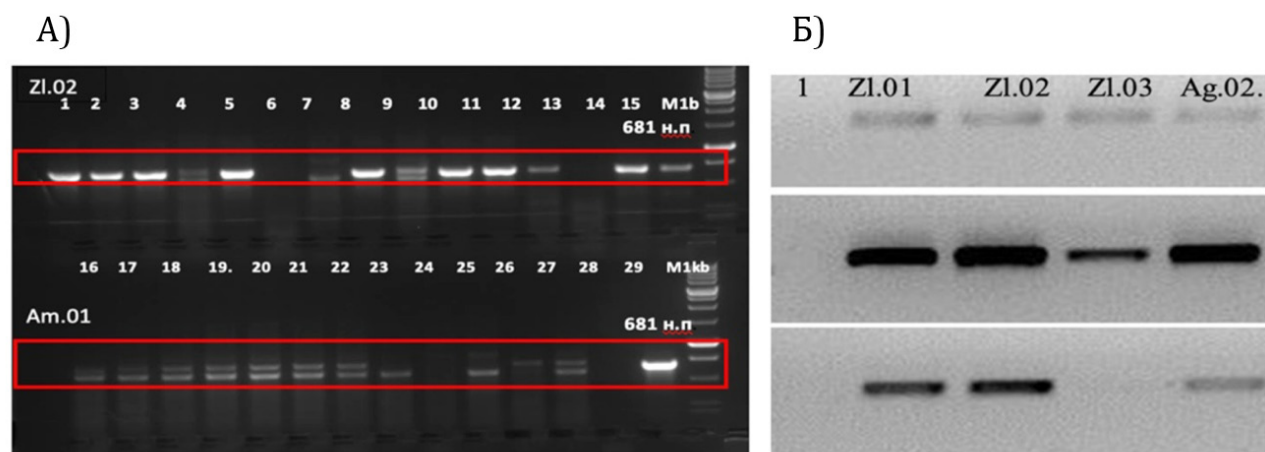


Рис. 3. А) Пример электрофореграммы ПЦР анализа наличие гена *OsGATA* в T1-поколении линии Zl.02 (1 линия) и Am.01 (2 линия): 1–27 – ДНК из регенерантов пшеницы, 28 – ДНК исходных растений, 29 – плазмидная ДНК pAct1:OsGATA – праймеры GA-Up+Tnos2 681 н.п., ДНК1 – маркер размера;
Б) Результаты ОТ-ПЦР на суммарной РНК, выделенной из трансгенных растений пшеницы T1: 1 – отрицательный контроль на примесь геномной ДНК (проведение ОТ-ПЦР без добавления синтеза кДНК).
 Верхняя панель – ОТ-ПЦР на актиновый ген (нормализация количества мРНК), нижняя и средняя панели – ОТ-ПЦР на ген *GATA* 25 и 30 циклов

Fig. 3. A) An example of a PCR electrophoregram for analysis of the presence of the *OsGATA* gene in the T1 generation of the Zl.02 (line 1) and Am.01 (line 2) lines: 1–27 – DNA from wheat regenerants, 28 – DNA of the original plants, 29 – plasmid DNA pAct1:OsGATA – primers GA-Up+Tnos2 681 bp, DNA1 – size marker;
B) Results of RT-PCR on total RNA isolated from T1: 1 – transgenic wheat plants – negative control for genomic DNA admixture (RT-PCR without adding cDNA synthesis). Top panel – RT-PCR for the actin gene (normalization of the amount of mRNA), bottom and middle panels – RT-PCR for the *GATA* gene 25 and 30 cycles

были использованы праймеры, специфичные к последовательности гена *GATA*, что позволяет использовать более высокую температуру их отжига на матричной РНК. Вероятно, низкий уровень мРНК трансгена в отобранных растениях линии Zl.03 объясняется его замалчиванием. Кроме того, количество копий трансгена в линиях Zl.01, Zl.02 и Ag.02 может быть несколько выше, хотя анализ расщепления линий поколения T1 показал однолокусную интеграцию вставки. Растения поколения T1, отобранные по результатам молекулярных анализов, культивировали при тех же условиях, что и растения из исходной коллекции.

Изучение форм запасных белков – глиадинов трансгенных растений методом электрофореза провели на всех полученных линиях, и было показано отсутствие различий между спектрами глиадинов оригинальных сортов и трансгенными линиями.

Наиболее распространенным методом определения солеустойчивости растений является учет энергии прорастания семян растений на засоленном субстрате. Часть семян, полученных от поколения T0 и показавших наличие гена *GATA*, помещали в стерильные чашки Петри на фильтровальную бумагу, увлажненную дистиллированной водой или растворами солей NaCl в концентрациях 150 мМ и 300 мМ. В качестве контроля использовали смесь нетрансгенных семян трех сортов: 'Злата', 'Агата', 'Амир'. Чашки с семенами помещали в климатическую камеру на 7 суток при температуре 22–24°C и 12-часовом режиме освещения. На третий-четвертый день эксперимента проводили учет энергии прорастания семян. На седьмой день эксперимента проводили учет длины побегов и корней, числа корней. Средняя всхожесть семян на чашках без соли составила 97,3% (для контроля) и 65–

96,6% (трансгенные линии) (рис. 4, А). В условиях засоления у всех образцов наблюдалось значительное снижение лабораторной всхожести. Так, при концентрации NaCl 150 мМ всхожесть снижалась до 30%, а при 300 мМ – до 6,7%. При этом у трансгенных линий наблюдались следующие результаты: всхожесть при концентрации NaCl 150 мМ составила 31–37%, а при 300 мМ – 10–23%.

В результате исследований было показано, что в условиях засоления наблюдалось статистически достоверное повышение устойчивости к засолению у трансгенной линии с геном *GATA* сорта 'Злата' – Zl.01 и 'Агата' – Ag.02 при засолении 0,3 мМ NaCl по сравнению с исходными сортами. Наблюдалось небольшое отличие между линиями. Также было выявлено значительное уменьшение числа корней (рис. 4, Б) и длины побегов (рис. 4, В) у контрольных растений. Полученные трансгенные линии сорта 'Злата' (Zl.01) и сорта 'Агата' (Ag.02) показали устойчивость к высоким дозам засоления при проращивании семян на солевых растворах в чашках Петри.

Для анализа биомассы трансгенных линий использовали навеску свежей массы побегов растений, а взвешивания проводили стандартным весовым методом в течение 10 суток действия хлорида натрия. Растения в 5-литровых сосудах поливали дистиллированной водой или растворами солей NaCl в концентрациях 100 мМ и 150 мМ. Эксперимент проводили в трехкратной повторности для каждого варианта по 5 проростков. Изучалось действие длительного (10 дней) засоления на растения. Засоление приводило к снижению скорости роста всех изученных исходных сортов: через 10 дней масса побега была в 1,7 раза ниже, чем в контроле, при 100 мМ и в 3,5 раза – при 150 мМ. У трансгенных линий угнетение роста варьировало больше, и превышало контроль в 1,3 раза при

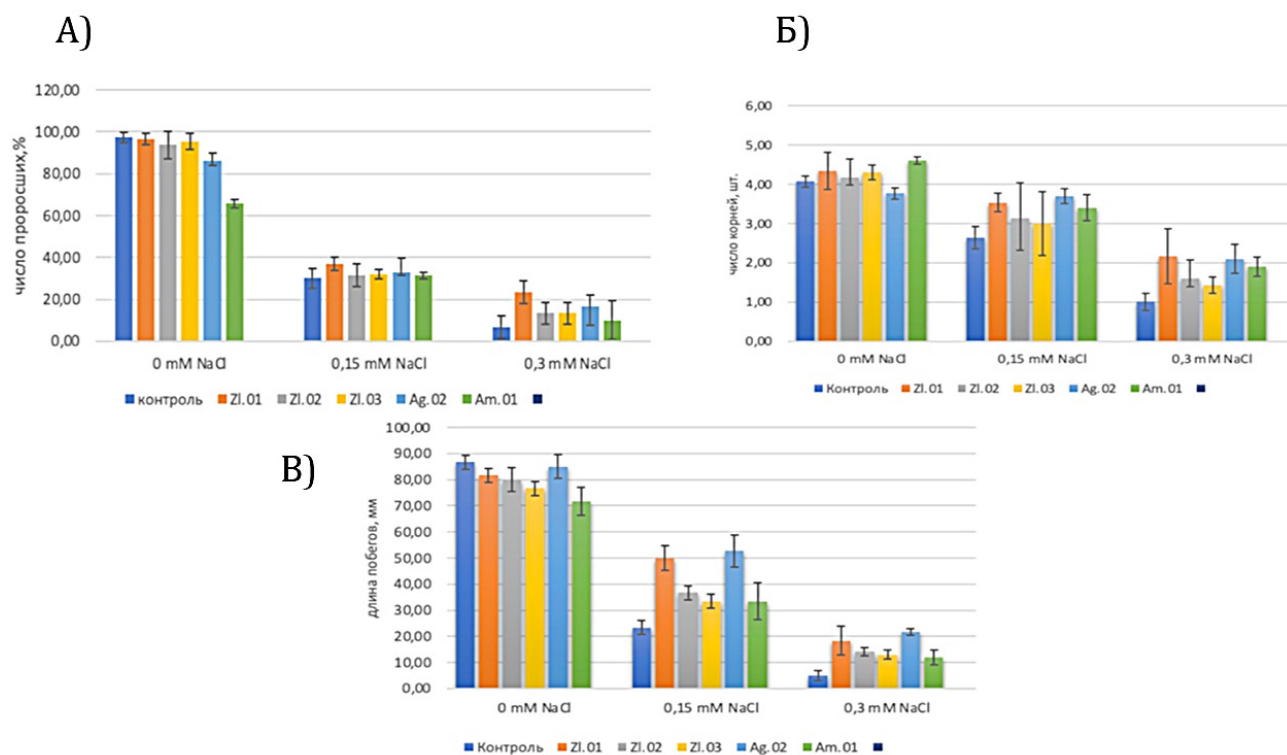


Рис. 4. Влияние различных концентраций NaCl:

на энергию прорастания семян, % (А); на количество корней (Б); на длину побегов (В)

Fig. 4. The effect of different NaCl concentrations on the energy of seed germination, % (A); the number of roots (Б); the length of shoots (В)

100 мМ и в 1,8 раза при 150 мМ. Причем в большинстве трансгенных линий не было достоверных различий по генотипам.

Показатель глюкозы в контрольных вариантах в листьях составил 2–4%. В условиях солевого стресса наблюдалось незначительное уменьшение количества сахаров (мг/грамм свежих листьев) у всех генотипов. Это уменьшение можно объяснить нарушением оттока в другие органы, в том числе и запасующие, синтезированные в листьях в процессе фотосинтеза углеводов, активацией ферментов, ответственных за синтез углеводов в условиях солевого стресса, а также ингибированием активности ферментов, ответственных за деградацию углеводов.

Изучение содержания свободного пролина на солевых растворах NaCl в концентрациях 0,1 мМ и 300 мМ в побегах 12-суточных проростков индивидуальных трансгенных линий, которые проращивали и культивировали на фоне летального обезвоживания, показали 2-3-кратное превышение этого показателя относительно контроля – на среде без NaCl. Эти данные свидетельствуют об участии свободного пролина в реакции растения на стресс, вызываемый засолением. Но содержание пролина статистически достоверно не различалось в листьях контрольных растений и изучаемых трансгенных линий. Максимальным оказался уровень пролина у линий и контрольных растений при сверхжестком стрессе (0,300 мМ NaCl)-засоления и составил 0,0054–0,0056 мкг/г (рис. 4, В). Полученные данные дают основание полагать, что повышенный уровень пролина, конститутивно синтезируемого в растениях пшеницы на ранних этапах онтогенеза, обычно способствует преодолению негативного влияния водного дефицита в условиях сверхжесткого солевого стресса.

Выводы

1. Факторы транскрипции играют ключевую роль в управлении регуляцией генов и проявляют дифференциальную экспрессию в различных физиологических условиях и условиях окружающей среды.

2. Получены трансгенные растения мягкой яровой пшеницы сортов 'Злата', 'Агата' и 'Амир', устойчивые к действию гербицида БАСТА в условиях *in vitro* и подтвердившие наличие и экспрессию гена *GATA* в трансгенных линиях, показали однолокусную интеграцию вставки.

3. Ген *GATA* транскрипционного фактора OsGATA повысил толерантность к солевому стрессу растений мягкой пшеницы. Трансгенные линии Zl.01, Ag.02 мягкой яровой пшеницы сортов 'Злата', 'Агата', экспрессирующие ген *GATA*, показали статистически достоверное повышение устойчивости к засолению, проводимому в засоленном субстрате.

4. Влияние солевого стресса на биомассу растений трансгенной пшеницы, экспрессирующих *GATA*, оценивали в поколении T1, и растения показали значительно более высокие показатели свежей массы по сравнению с нетрансформированными растениями.

5. Созданные в ходе исследования трансгенные растения, несущие гены *GATA* и *bar*, могут быть использованы для дальнейшего изучения функциональной роли транскрипционного фактора OsGATA в регулировании устойчивости растений к стрессу, вызываемому другими абиотическими факторами.

References / Литература

- An Y., Zhou Y., Han X., Shen C., Wang S., Liu C. et al. The GATA transcription factor GNC plays an important role in photosynthesis and growth in poplar. *Journal of Experimental Botany*. 2020;71(6):1969-1984. DOI: 10.1093/jxb/erz564
- Daniel-Vedele F., Caboche M. A tobacco cDNA clone encoding a GATA-1 zinc finger protein homologous to regulators of nitrogen metabolism in fungi. *Molecular and General Genetics*. 1993;240(3):365-373. DOI: 10.1007/BF00280388
- Gaponenko A.K., Mishutkina Ya.V., Shulga O.A., Timoshenko A.A., Spechenkova N.A. Method for obtaining transgenic wheat plants using bioballistics. Russian Federation; patent number: 2646108; 2018. [in Russian] (Гапоненко А.К., Мишуткина Я.В., Шульга О.А., Тимошенко А.А., Спеченкова Н.А. Способ получения трансгенных растений пшеницы с использованием биобаллистики. Российская Федерация; патент № 2646108; 2018).
- Gupta P., Nutan K.K., Sinha-Pareek S.L., Pareek A. Abiotic stresses cause differential regulation of alternative splice forms of GATA transcription factor in rice. *Frontiers in Plant Science*. 2017;8:1944. DOI: 10.3389/fpls.2017.01944
- Liu X., Zhu X., Wei X., Lu C., Shen F., Zhang X. et al. The wheat LLM-domain-containing transcription factor TaGATA1 positively modulates host immune response to *Rhizoctonia cerealis*. *Journal of Experimental Botany*. 2020;71(1):344-355. DOI: 10.1093/jxb/erz409
- Lu G., Casaretto J.A., Ying S., Mahmood K., Liu F., Bi Y.M. et al. Overexpression of OsGATA12 regulates chlorophyll content, delays plant senescence and improves rice yield under high density planting. *Plant Molecular Biology*. 2017;94(1):215-227. DOI: 10.1007/s11103-017-0604-x
- Maniatis T., Fritsch E.F., Sambrook J. Methods of genetic engineering. Molecular cloning. Moscow: Mir; 1984. [in Russian] (Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. Москва: Мир; 1984).
- Nutan K.K., Singla-Pareek S.L., Pareek A. The *Saltol* QTL-localized transcription factor OsGATA8 plays an important role in stress tolerance and seed development in *Arabidopsis* and rice. *Journal of Experimental Botany*. 2020;71(2):684-698. DOI: 10.1093/jxb/erz368
- Ravindran P., Verma V., Stamm P., Kumar P.P. A novel RGL2-DOF6 complex contributes to primary seed dormancy in *Arabidopsis thaliana* by regulating a GATA transcription factor. *Molecular Plant*. 2017;10(10):1307-1320. DOI: 10.1016/j.molp.2017.09.004
- Reyes J.C., Muro-Pastor M.I., Florencio F.J. The GATA family of transcription factors in *Arabidopsis* and rice. *Plant Physiology*. 2004;134(4):1718-1732. DOI: 10.1104/pp.103.037788
- Seki M., Kamei A., Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K. Molecular responses to drought, salinity and frost: common and different paths for plant protection. *Current Opinion in Biotechnology*. 2003;14(2):194-199. DOI: 10.1016/S0958-1669(03)00030-2
- Verbitskaya A.A., Ivanova A.I., Shulga O.A., Schuklina O.A., Gaponenko A.K. Transformation of immature wheat germ (*Triticum aestivum* L.) by particle bombardment. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2021;843(1):012042. DOI: 10.1088/1755-1315/843/1/012042
- Zhang H., Wu T., Li Z., Huang K., Kim N.E., Ma Z. et al. OsGATA16, a GATA transcription factor, confers cold tolerance by repressing OsWRKY45-1 at the seedling stage in rice. *Rice*. 2021;14(1):42. DOI: 10.1186/s12284-021-00485-w

Информация об авторах

Анастасия Алексеевна Вербицкая, младший научный сотрудник, Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова Российской академии наук, 119334 Россия, Москва, ул. Вавилова, 26, timoshenko.alekseevna@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1459-5845>

Анна Сергеевна Егорова, младший научный сотрудник, Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, 119991 Россия, Москва, ул. Губкина, 3, anna.ivanova1995@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8805-5281>

Елена Александровна Царькова, младший научный сотрудник, Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, 119991 Россия, Москва, ул. Губкина, 3, ts.el@mail.ru

Александр Константинович Гапоненко, доктор биологических наук, главный научный сотрудник, Институт общей генетики имени Н.И. Вавилова Российской академии наук, 119991 Россия, Москва, ул. Губкина, 3, akgaponenko@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5699-1339>

Information about the authors

Anastasiia A. Verbitskaia, Associate Researcher, Koltzov Institute of Developmental Biology, Russian Academy of Sciences, 26 Vavilova St., Moscow 119334, Russia, timoshenko.alekseevna@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1459-5845>

Anna S. Egorova, Associate Researcher, Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, 3 Gubkina St., Moscow 119991, Russia, anna.ivanova1995@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8805-5281>

Elena A. Tsarkova, Associate Researcher, Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, 3 Gubkina St., Moscow 119991, Russia, ts.el@mail.ru

Alexander K. Gaponenko, Dr. Sci. (Biology), Chief Researcher, Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, 3 Gubkina St., Moscow 119991, Russia, akgaponenko@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5699-1339>

Вклад авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Contribution of the authors: the authors contributed equally to this article.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests: the authors declare no conflicts of interests.

Статья поступила в редакцию 12.05.2022; одобрена после рецензирования 18.08.2022; принята к публикации 06.09.2022. The article was submitted on 12.05.2022; approved after reviewing on 18.08.2022; accepted for publication on 06.09.2022.