

УДК 561.143.6

## ЦИТОГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ТРАНСГЕННИХ РОСЛИН ПШЕНИЦІ, ОТРИМАНИХ ЗА *AGROBACTERIUM*-ОПОСЕРЕДКОВАНОЇ ТРАНСФОРМАЦІЇ

С.С. ВОРОНОВА, О.В. ДУБРОВНА, А.В. БАВОЛ

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

Досліджено цитогенетичні особливості трансгенних рослин пшениці, отриманих методом *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації клітин із використанням калюсних культур сорту Зимоярка, що мають високий морфогенетичний потенціал. Трансгенні рослини-регенеранти, отримані з 12 ліній (57 %), були каріотипічно нормальними ( $2n = 6x = 42$ ) без видимих хромосомних аберацій; серед регенерантів 9 ліній (43 %) встановлено хромосомну мінливість, яка виявлялася анеуплоїдією та структурними змінами хромосом. За числом хромосом різнилися рослини, регенеровані з клітин однієї й тієї ж калюсної лінії. Найпоширенішою серед хромосомних відхилень у трансгенних рослин пшениці була анеуплоїдія. Змін рівня плоідності рослин не зафіксовано.

*Ключові слова:* *Triticum aestivum* L., хромосомні аномалії, трансгенні рослини.

Технологію генетичної трансформації широко впроваджують для отримання нової генетичної плазми з метою використання в селекційних програмах з поліпшення зернових культур, зокрема пшениці [32, 36]. Найпоширенішими методами генетичної трансформації цієї культури є бомбардування мікрочастинками і спільне культивування з *Agrobacterium tumefaciens* [15, 34]. Основні методи отримання трансгенних рослин за *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації базуються на перенесенні тДНК у клітини та інтеграції її в геном культивованих *in vitro* клітин з наступною індукцією регенерації пагоноутворення [6, 25].

Для успішного використання генетичної трансформації важливо, щоб агрономічно-корисні гени були введені в рослинний геном, мали стабільну експресію в наступних поколіннях, а соматоклональна мінливість, яка виникає в культурі *in vitro*, була зведена до мінімуму. В численних працях зазначено, що соматоклональна варіабельність часто спостерігається в культурі *in vitro* пшениці [17, 24, 33]. Згідно з даними цитогенетичного аналізу калюсних культур і рослин-регенерантів, хромосомні зміни, такі як делеції, інверсії та дуплікації, поширені в мітотичних клітинах. Встановлено, що в деяких випадках ці соматоклональні зміни негативно впливають на фенотип рослин-регенерантів [14, 18, 19].

За *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації *in vitro* методами культури тканин можливі генетичні й епігенетичні зміни геному [22, 29]. Спектр описаних у літературі тДНК-індукованих мутацій доволі широкий. Доведено, що вбудовування тДНК в геном може спричинити появу всього спектра мутацій, описаних класичною генетикою — від точкових

мутацій до значних хромосомних перебудов, таких як транслокації, інверсії, дуплікації та навіть зміни рівня плоїдності [7, 23, 27, 31]. Крім того, стреси, пов'язані з різними аспектами генетичної трансформації рослин, наприклад використання антибіотиків та власне інфекція *Agrobacterium*, також можуть призвести до генетичних та (або) епігенетичних змін у геномі [5].

В останні роки дослідники описали успішну стабільну генетичну трансформацію пшениці з використанням культивованих *in vitro* тканин [6, 8, 13, 20, 25], однак жодного докладного цитогенетичного аналізу трансгенних рослин пшениці не зроблено. Загалом тільки в кількох роботах проведено цитогенетичний аналіз трансгенних рослин, зокрема тютюну [26], сої [30], ячменю [10], вівса [9].

Метою нашої роботи був цитогенетичний аналіз трансгенних рослин пшениці, отриманих методом *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації в культурі *in vitro*. Щоб оцінити наслідки процесу генетичної трансформації стосовно цитогенетичних особливостей рослин, паралельно досліджено нетрансгенні й трансгенні рослини-регенеранти, отримані в культурі *in vitro*.

### Методика

Досліджували сучасний високоврожайний сорт м'якої пшениці Зимоярка, що має високий морфогенетичний потенціал *in vitro* [2]. Для генетичної трансформації брали калюси, індуковані з апікальних меристем тридобо-вих стерильних проростків, попередньо вирощених *in vitro*. Калюсні культури культивували на середовищі МС з додаванням 2 мг/л 2,4-Д.

*Agrobacterium*-опосередковану трансформацію проводили за методикою, описаною в праці [1], з використанням штаму LBA4404, що містить векторну конструкцію pBi2E з дволанцюговим РНК-супресором гена проліндегідрогенази (pdh) та pntII — ген неоміцинофосфотрансферази II *E. coli*, люб'язно надану канд. біол. наук А.В. Кочетовим (Інститут цитології і генетики СВ РАН, м. Новосибірськ). Трансгенний статус регенерантів підтверджено методом полімеразної ланцюгової реакції [1].

Цитологічний аналіз покоління  $T_0$  виконували в клітинах кореневої меристеми молодих рослин. Корені протягом 5 год обробляли 0,05 %-м розчином колхіцину для скорочення хромосом. Матеріал фіксували в суміші етанол : льодяна оцтова кислота (3 : 1) упродовж доби в холодильнику за температури 4 °С, потім переносили у 70 ° етанол. Після фіксування зразки кілька разів промивали у дистильованій воді, вміщували на 30 хв у 5 н розчин HCl кімнатної температури для мацерації, відмивали у дистильованій воді, забарвлювали 2 %-м лактопропіоновим орсеїном протягом доби за кімнатної температури. Готували тимчасові давлені препарати за стандартною методикою [4] в 45 %-му розчині оцтової кислоти.

Для цитологічного аналізу покоління рослин  $T_1$  насіння незалежних трансгенних ліній пророщували на вологому фільтрувальному папері і фіксували кінчики первинних коренів окремих рослин. Число хромосом підраховували щонайменше у п'яти метафазних пластинках однієї рослини.

### Результати та обговорення

Число хромосом підраховували в клітинах кореневої меристеми 32 нетрансгенних рослин-регенерантів, індукованих із калюсів тримісячного

віку. Калюси, з яких індукували трансгенні рослини-регенеранти, були такого ж віку. В результаті цитологічного аналізу виявлено три анеуплоїдні рослини ( $2n = 6x = 40$  або  $2n = 6x = 41$ ) без будь-яких структурних змін, що становило 10,3 % загального числа досліджених рослин (табл. 1). Решта регенерантів мала нормальний каріотип ( $2n = 6x = 42$ ). Із 32 проаналізованих рослин насіння зав'язали 28, тобто фертильність нетрансгенних форм знаходилась на рівні 87,5 %.

Як відомо, високий рівень геномної мінливості — одна з характерних особливостей клітинних культур пшениці, яка виявляється при вивченні не лише каріотипу, а й послідовностей ядерної, хлоропластної та мітохондріальної ДНК [3]. Встановлено, що генетична нестабільність рослин-регенерантів пшениці може виявлятися у змінах числа і структури хромосом. Наприклад, серед регенерантів гексаплоїдної пшениці ( $2n = 6x = 42$ ) 29 % рослин були анеуплоїдними ( $2n = 38-45$ ) [21].

У ході дослідження визначено число хромосом у клітинах кореневої меристеми рослин  $T_0$ , регенерованих з окремих трансформованих ка-

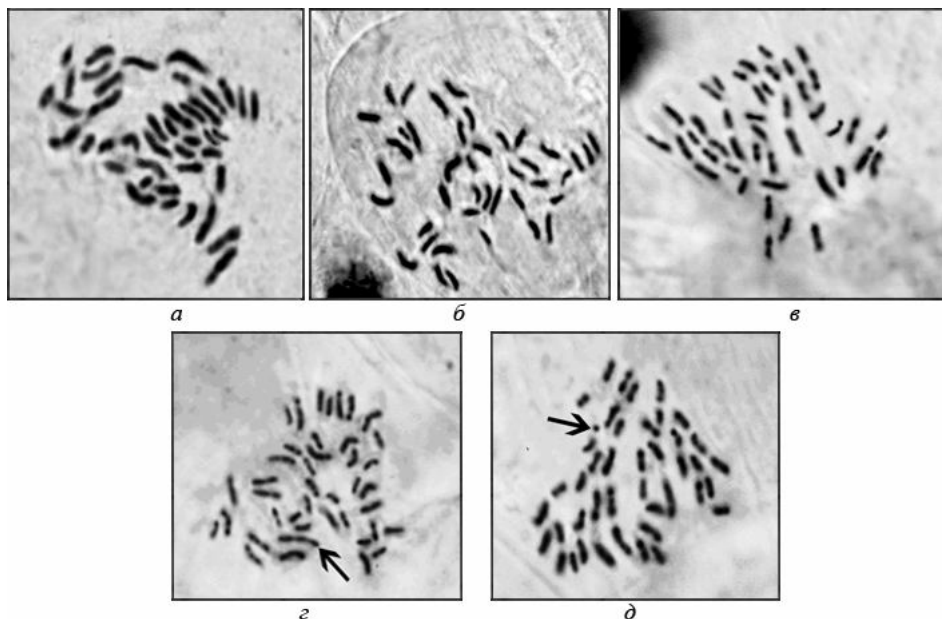
ТАБЛИЦЯ 1. Результати аналізу числа хромосом і фертильності у нетрансгенних рослин пшениці

Кількість проаналізованих рослин, шт.	Кількість рослин із числом хромосом, шт.			Анеуплоїди, %	Фертильність рослин, %
	40	41	42		
32	1	2	29	10,3	87,5

ТАБЛИЦЯ 2. Результати аналізу числа хромосом і фертильності у трансгенних рослин пшениці

Калюсна лінія після трансформації	Кількість трансгенних рослин, шт.	Число хромосом	Фертильність
Зимоярка 1	1	42	+
Зимоярка 4	2	42	—
Зимоярка 5	1	41	—
Зимоярка 9	2	42	+
Зимоярка 11	1	42	+
Зимоярка 23	2	41, 42	+
Зимоярка 24	1	41 + 1dl	+
Зимоярка 29	3	42, 43	—
Зимоярка 31	2	42	+
Зимоярка 37	1	42	—
Зимоярка 43	1	42	+
Зимоярка 48	1	40 + 1ds	—
Зимоярка 54	3	41, 42	—
Зимоярка 55	2	40 + 1f, 41 + 1f	—
Зимоярка 59	1	42	+
Зимоярка 63	1	42	+
Зимоярка 67	1	42	+
Зимоярка 87	1	42	—
Зимоярка 91	2	42	+
Зимоярка 97	1	41 + 1dl	+
Зимоярка 103	2	41, 42	+

П р и м і т к а: dl — делеція; ds — дицентрик; f — фрагмент.



Метафазні пластинки клітин кореневої меристеми трансгенних рослин:

*a* — еуплоїд  $2n = 6x = 42$ ; *б–д* — анеуплоїди  $2n = 6x = 41$  (*б*),  $2n = 6x = 43$  (*в*),  $2n = 6x = 40 + 1ds$  (*г*),  $2n = 6x = 41 + 1f$  (*д*)

люсних ліній пшениці. З 21 незалежної калусної лінії (табл. 2) регенеранти 12 ліній (57 %) були каріотипічно стабільними ( $2n = 6x = 42$ ) (рисунки, *a*) й мали еуплоїдний набір хромосом. Однак серед регенерантів 9 ліній (43 %) виявлено анеуплоїди ( $2n = 6x = 41$  або  $2n = 6x = 43$ ) та анеуплоїдні рослини зі структурними змінами хромосом: дицентричними хромосомами ( $2n = 6x = 40 + 1ds$ ), делеціями ( $2n = 6x = 41 + 1dl$ ), ацентричними фрагментами ( $2n = 6x = 40 + 1f$ ;  $2n = 6x = 41 + 1f$ ) (див. рисунок, *б–д*). Слід зазначити, що різні числа хромосом мали рослини-регенеранти, отримані з однієї й тієї самої калусної лінії (лінії Зимоярка 23, 29, 54, 103); у цих 4 лініях одночасно були як цитологічно нормальні, так і змінені рослини. Оскільки різні числа хромосом мали трансгенні рослини, регенеровані з однієї калусної лінії, цілком імовірно, що рівень хромосомної мінливості значно вищий за виявлений нами, так як з деяких трансформованих ліній отримано й проаналізовано тільки одну або дві рослини. Загалом із 32 проаналізованих трансгенних рослин 69 % (22 з 32) мали нормальний хромосомний набір ( $2n = 6x = 42$ ), а решта 10 рослин (31 %) — хромосомні аномалії, такі як анеуплоїдія, транслокації, делеції, ацентричні фрагменти. Отже, у трансгенних рослин пшениці, отриманих методом *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації, виявлено втричі вищий рівень каріотипічної мінливості порівняно з нетрансгенними рослинами-регенерантами.

Фертильність трансгенних рослин, отриманих із калусних культур, знаходилась на рівні 62 % (див. табл. 2). Із 12 ліній з нормальним хромосомним набором ( $2n = 6x = 42$ ) фертильні регенеранти отримано тільки з 9 (75 %). Рослини, індуковані з інших 3 ліній, виявились стерильними. Можливо, фертильність втрачається через невиявлені і непомітні за рутинного цитологічного аналізу зміни хромосом. Більшість трансгенних рослин із хромосомними аномаліями була стерильною або

ТАБЛИЦЯ 3. Результати аналізу числа хромосом у рослин  $T_1$ 

Калюсна лінія після трансформації	Кількість проаналізованих рослин, шт.	Число хромосом у поколінні $T_0$	Число хромосом у поколінні $T_1$
Зимоярка 1	5	42	42 (5)*
Зимоярка 9	5	42	42 (5)
Зимоярка 11	4	42	42 (5)
Зимоярка 23	4	41	41 (2); 42 (2)
Зимоярка 31	4	42	42 (4)
Зимоярка 43	4	42	42 (4)
Зимоярка 59	5	42	42 (5)
Зимоярка 63	4	42	42 (4)
Зимоярка 67	5	42	42 (5)
Зимоярка 91	5	42	42 (5)
Зимоярка 103	4	41	40 (3); 41 (1)

\*У дужках наведено кількість проаналізованих рослин.

мала низьку фертильність; тільки 44 % (4 з 9) зав'язали насіння. Отже, встановлено тісний зв'язок між фертильністю і мінливістю числа хромосом у трансгенних форм. Стерильність і низька фертильність досліджуваних рослин імовірно пов'язана з втратою хромосом чи нестабільністю їх числа під час аномального мейозу. Зниження фертильності або повна стерильність також часто спостерігається і в інших трансгенних рослин злаків [11, 32].

Ми проаналізували число хромосом у рослин насінневого покоління  $T_1$ , отриманих з 11 незалежних ліній (табл. 3). Усі 42 досліджені рослини  $T_1$ , які походять від 9 цитологічно стабільних рослин  $T_0$  (Зимоярка 1, 9, 11, 31, 43, 59, 63, 67, 91), мали нормальний каріотип ( $2n = 6x = 42$ ). Нормальний каріотип мали також рослини  $T_1$ , отримані з рослин  $T_0$  з еуплоїдним набором хромосом ліній Зимоярка 23 і 103. Однак у потомстві рослин  $T_0$  з анеуплоїдним набором хромосом (лінії Зимоярка 23, 103) виділено рослини з різним числом хромосом. З анеуплоїдного регенеранта  $T_0$  ( $2n = 6x = 41$ ) отримано рослини з каріотипом  $2n = 6x = 41$ , а також рослини з нормальним каріотипом  $2n = 6x = 42$ . Це означає, що рослини з нормальним каріотипом сформувались унаслідок запліднення яйцеклітини з гаплоїдним набором хромосом ( $n = 3x = 21$ ) спермієм такої самої плоїдності. З анеуплоїдної рослини лінії Зимоярка 103  $T_0$  ( $2n = 6x = 41$ ) розвинулись 3 рослини з набором хромосом  $2n = 6x = 40$  та 1 рослина з числом хромосом  $2n = 6x = 41$ .

Серед хромосомних відхилень у трансгенних рослин пшениці найпоширенішою була анеуплоїдія, виявлено також структурні зміни у вигляді дицентричних хромосом, делецій, ацентричних фрагментів. Проте жодних змін рівня плоїдності у трансгенних рослин ми не встановили. Часто анеуплоїдії без змін рівня плоїдності спостерігались у гексаплоїдних трансгенних рослин костриці та вівса [9]. Разом з тим у трансгенних рослин диплоїдної сої в результаті цитологічного аналізу поряд з анеуплоїдними виявлено і тетраплоїдні форми ( $2n = 4x = 80$ ) [30]. У потомстві трансгенних рослин тетраплоїдного тютюну ( $2n = 4x = 48$ ) також були

анеуплоїдні рослини ( $2n = 4x = 49, 50$ ) [26]. Отже, характер хромосомної мінливості залежить від конкретного виду рослин і стану їх геному.

Як відомо, за культивування *in vitro* ступінь стресу впливає на стабільність хромосом [12]. У наших дослідах найімовірніше додатковий стрес, що виникав у процесі генетичної трансформації, посилював стрес за культивування *in vitro*, підвищував частоту мінливості хромосом у трансгенних рослин пшениці. За *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації простежуються щонайменше 4 види стресового впливу: 1) поранення; 2) контакт із патогенним організмом; 3) культивування *in vitro*; 4) власне трансгенез, тобто інтеграція тДНК у геном рослини [16]. Три перші види стресу супроводжуються явищами, характерними для первинної неспецифічної стресової відповіді (окиснювальний вибух), активування окиснювальних ферментів та ін.) [16]. Крім того, культивування на селективному середовищі необхідне для добору передбачуваних трансгенних форм; за такої селекції трансформовану тканину протягом тривалого періоду оточують мертві або вмираючі клітини, у результаті цього вона швидше за все зазнає додаткового стресу. Процес генетичної трансформації чинить додатковий вплив на цілісність хромосом, що узгоджується з результатами нашої роботи, а також висновками інших дослідників, які встановили підвищений рівень цитологічних змін у трансгенних форм злаків порівняно з нетрансгенними рослинами [9, 10]. У результаті проведеного цитогенетичного аналізу ми виявляли лише значні зміни числа хромосом та їх цілісності. Ймовірно, можливі й інші, менш помітні зміни структури хромосом, наприклад мутації, зміна рівня метилування [28, 35]. Такі зміни зменшують життєздатність трансгенних рослин, впливають на процеси мейозу, знижують фертильність.

Отже, цитогенетичний аналіз трансгенних рослин пшениці, отриманих за *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації з калюсних культур сорту Зимоярка, дав змогу встановити значно вищий рівень каріотипічної мінливості трансгенних форм порівняно з нетрансгенними. Хромосомна мінливість трансгенних рослин виявлялася в анеуплоїдії та структурних змінах хромосом. Відмінності числа хромосом спостерігалися серед рослин, регенерованих з однієї й тієї ж калюсної лінії. Цитогенетичний аналіз рослин допомагає на ранніх стадіях вибракувати генетично аномальні форми, отримані за *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації.

1. Бавол А.В., Воронова С.С., Дубровна О.В. Оптимізація *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації калюсних культур пшениці // Физиология растений и генетика. — 2015. — 47, № 1. — С. 58—65.
2. Гончарук О.М., Бавол А.В., Дубровна О.В. Морфогенетичний потенціал високопродуктивних сортів озимої пшениці в культурі апікальних меристем пагонів // Фактори експериментальної еволюції організмів: 36. наук. праць. — К.: Логос, 2011. — Т. 11. — С. 237—242.
3. Дубровна О.В., Бавол А.В. Мінливість геному пшениці в культурі *in vitro* // Цитология и генетика. — 2011. — 45, № 5. — С. 76—84.
4. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. — М.: Колос, 1988. — 280 с.
5. Bardini M., Labra M., Winnfield M., Sala F. Antibiotic-induced DNA methylation changes in calluses of *Arabidopsis thaliana* // Plant Cell, Nissue Organ Cult. — 2003. — 72. — P. 157—162.
6. Bhalla P.L., Ottenhof H.H., Singh M.B. Wheat transformation — an update of recent progress // Euphytica. — 2006. — 149. — P. 353—366.
7. Castle L., Errampalli D., Atherton T. et al. Genetic and molecular characterisation of embryonic mutants identified following seed transformation in *Arabidopsis* // Mol. Gen. Genet. — 1993. — 241, N 5—6. — P. 504—514.

8. Cheng M., Fry J., Pang S. et al. Genetic transformation of wheat mediated by *Agrobacterium tumefaciens* // Plant Physiol. — 1997. — **115**. — P. 971–980.
9. Choi H.W., Lemaux P.G., Cho M.-J. High frequency of cytogenetic aberration in transgenic oat (*Avena sativa* L.) plants // Plant Sci. — 2001. — **160**. — P. 763–772.
10. Choi H.W., Lemaux P.G., Cho M.-J. Increased chromosomal variation in transgenic versus nontransgenic barley (*Hordeum vulgare* L.) plants // Crop. Sci. — 2000. — **40**. — P. 524–533.
11. Cho M., Jiang W., Lemaux P. Transformation of recalcitrant barley cultivars through improvement of regenerability and decreased albinism // Plant Sci. — 1998. — **138**. — P. 229–244.
12. Constantin M.J. Chromosome instability in cell and tissue cultures and regenerated plants // Environ. Exp. Bot. — 1981. — **21**. — P. 359–368.
13. Dale P., Marks M., Brown M. et al. Agroinfection of wheat: inoculation of in vitro grown seedlings and embryos // Plant Sci. — 1989. — **63**. — P. 237–245.
14. Dogramaci-Altuntepe M., Peterson T., Jauhar P. Anther culture-derived regenerants of durum wheat and their cytological characterization // J. Hered. — 2001. — **92**, N 1. — P. 56–64.
15. El-Mangoury K.A., Abdrabou R.Th., Yasien M., Fahmy A. Optimization of a transformation system for three Egyptian wheat cultivars using immature embryo-derived callus via microprojectile bombardment // Arab. J. Biotechnol. — 2006. — **9**, N 1. — P. 175–188.
16. Enikeev A.G., Kopytina T.V., Semenova L.A. et al. *Agrobacterium* transformation as complex biotical stressing factor // J. Stress Physiol. Biochem. — 2008. — **4**, N 1. — P. 11–19.
17. Franzone P.M., Suarez E.Y., Solari R.M. et al. Somaclonal variation in three Argentinean varieties of *Triticum aestivum* with different karyotype variability // Plant Breed. — 1996. — **115**. — P. 89–93.
18. Henry Y., Marcotte J., De Buyser J. The effect of aneuploidy on karyotype abnormality in wheat plants regenerated from short and long-tetm somatic embryogenesis // Plant Sci. — 1996. — **114**. — P. 101–109.
19. Jain S.M., Brar D.S., Ahloowalia B.S. Somaclonal variation and induced mutations in crop improvement. — Kluwer: Acad. Publ., 1998. — 353 p.
20. Jones H., Doherty A., Wu H. Review of methodologies and a protocol for the *Agrobacterium*-mediated transformation of wheat // Plant methods. — 2005. — **1**, N 5. — P. 1–17.
21. Karp A., Maddock S. Chromosome variation in wheat plants regenerated from cultured immature embryos // Theor. Appl. Genet. — 1984. — **67**. — P. 249–255.
22. Labra M., Savini C., Bracale M. et al. Genomic changes in transgenic rice (*Oryza sativa* L.) plants produced by infecting calli with *Agrobacterium tumefaciens* // Plant Cell Rep. — 2001. — **20**. — P. 325–330.
23. Laufs P., Autran D., Traas J. A chromosomal paracentric inversion associated with T-DNA integration in *Arabidopsis* // Plant J. — 1999. — **18**, N 2. — P. 131–139.
24. Leroy X., Leon K., Hily J. et al. Detection of in vitro culture-induced instability through inter-simple sequence repeat analysis // Theor. Appl. Genet. — 2001. — **102**, N 6–7. — P. 885–891.
25. Mahalakshmi A., Khurana P. *Agrobacterium*-mediated gene delivery in various tissues and genotypes of wheat (*Triticum aestivum* L.) // J. Plant Biochem. Biotechnol. — 1995. — **4**, N 2. — P. 55–59.
26. Matzke M.A., Moscone E.A., Park Y.-D. Inheritance and expression of a transgene insert in an aneuploid tobacco line // Mol. Gen. Genet. — 1994. — **245**, N 4. — P. 471–485.
27. Negruk V., Eisner G., Lemieux B. Addition-deletion mutations in transgenic *Arabidopsis thaliana* generated by the seed co-cultivation method // Genome. — 1996. — **39**, N 6. — P. 1117–1122.
28. Phillips R., Kaeppeler S., Olhoft P. Genetic instability of plant tissue cultures: Breakdown of normal controls // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1994. — **91**, N 12. — P. 5222–5226.
29. Sala F., Arencibia A., Castiglione S. et al. Somaclonal variation in transgenic plants // Acta Horticulture. — 2000. — **530**. — P. 411–419.
30. Singh R.J., Klein T.M., Mauvais C.J. Cytological characterization of transgenic soybean // Theor. Appl. Genet. — 1998. — **96**. — P. 319–324.
31. Tax F., Vernon D. T-DNA-associated duplication/translocations in *Arabidopsis*. Implications for mutant analysis and functional genomics // Plant Physiol. — 2001. — **126**, N 4. — P. 1527–1538.
32. Vasil V., Castillo A.-M., Fromm M.E., Vasil I.K. Herbicide resistant fertile transgenic wheat plants obtained by microprojectile bombardment of regenerable embryogenic callus // Nature Biotech. — 1992. — **10**. — P. 667–674.
33. Wang L., Ven Y. Molecular basis of somaclonal variation in wheat // Mol. Plant Breed. — 2005. — **3**. — P. 857–863.
34. Xia G., Li Z., He C. et al. Transgenic plant regeneration from wheat (*Triticum aestivum* L.) mediated by *Agrobacterium tumefaciens* // Acta Physiol. Sin. — 1999. — **25**. — P. 22–28.
35. Zhang S., Cho M., Bregitzer M., Lemaux P. Comparative analysis of genomic DNA methylation status and field performance of plants derived from embryogenic calli and shoot meris-

## ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ

- tematic cultures // Plant Biotechnology and In Vitro Biology in the 21st Century. — Kluwer, Dordrecht, 1999. — P. 263—267.
36. Zhao T., Zhao S., Chen H. et al. Transgenic wheat progeny resistant to powdery mildew generated by *Agrobacterium* inoculum to the basal portion of wheat seedling // Plant Cell Rep. — 2006. — 25, N 11. — P. 1199—1204.

Отримано 21.05.2015

## ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ, ПОЛУЧЕННЫХ ПРИ *AGROBACTERIUM*-ОПОСРЕДОВАННОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ

С.С. Воронова, О.В. Дубровная, А.В. Бавол

Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины, Киев

Исследованы цитогенетические особенности трансгенных растений пшеницы, полученных методом *Agrobacterium*-опосредованной трансформации клеток с использованием каллюсных культур сорта Зимоярка, имеющих высокий морфогенетический потенциал. Трансгенные растения-регенеранты, полученные из 12 линий (57 %), были кариотипически нормальными ( $2n = 6x = 42$ ) без видимых хромосомных aberrаций; среди регенерантов 9 линий (43 %) установлена хромосомная изменчивость, которая проявлялась анеуплоидией и структурными изменениями хромосом. По числу хромосом различались растения, регенерированные из клеток одной и той же каллюсной линии. Наиболее распространенной среди хромосомных отклонений у трансгенных растений пшеницы была анеуплоидия. Изменения уровня плоидности растений не зафиксированы.

## CYTOGENETIC PECULIARITIES OF TRANSGENIC WHEAT PLANTS OBTAINED BY *AGROBACTERIUM*-MEDIATED TRANSFORMATION

S.S. Voronova, O.V. Dubrovna, A.V. Baval

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

Cytogenetic peculiarities of genetically modified wheat plants obtained by *Agrobacterium*-mediated transformation of highly regenerative calli cultures variety Zimoyarka have been investigated. Transgenic regenerated plants obtained from 12 lines (57 %) were karyotypically normal ( $2n = 6x = 42$ ) without visible chromosomal aberrations; and among regenerants 9 lines (43 %) it was identified chromosomal variability that appeared as aneuploidy and structural changes of chromosomes. Differences among the chromosomes quantities were observed among the plants regenerated from the same callus line. The most common chromosomal abnormality among transgenic wheat plants was aneuploidy. Changes in ploidy level of the plants was not observed.

*Key words:* *Triticum aestivum* L., chromosomal abnormalities, transgenic plants.