

СЛИВКА Л.В., ДУБРОВНА О.В.✉

Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України,

Україна, 03022, м. Київ, вул. Васильківська, 31/17, ORCID: 0000-0001-6133-4395, 0000-0002-4884-7572

✉ dubrovny@ukr.net, (067) 503-87-30

ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ТА ГОСПОДАРСЬКІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ТРАНСГЕННИХ РОСЛИН ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ З РНК-СУПРЕСОРОМ ГЕНА ПРОЛІНДЕГІДРОГЕНАЗИ

Мета. Проаналізувати фізіолого-біохімічні та господарські характеристики генетично модифікованих рослин нових перспективних генотипів пшениці озимої м'якої насінневого покоління T₂ з дволанцюговим РНК-супресором гена проліндегідрогенази. **Методи.** *Agrobacterium*-опосередкована трансформація *in vitro*; біохімічне визначення активності ферменту проліндегідрогенази та вмісту вільного проліну; морфометричні показники та елементи структури врожаю; методи математичної статистики. **Результати.** З'ясовано, що трансгенні рослини, на відміну від контрольних, ростуть на середовищі з манітом інтенсивніше, зберігаючи зелене забарвлення. Встановлено, що як за нормальних умов, так і за умов водного дефіциту рослини насінневого покоління T₂ мають підвищений рівень вільного проліну в листках (порівняно з контрольними генотипами). Виявлено, що трансформанти характеризуються зниженою активністю ферменту проліндегідрогенази, що проявляється за зміни умов норма–стрес–норма. Трансгенні рослини T₂ мали більш високу толерантність до водного дефіциту порівняно з вихідними, що відображалось в характері їх росту. В умовах дефіциту ґрунтової вологи врожайність більшості трансформованих ліній була вищою порівняно з нетрансформованими рослинами. **Висновки.** Отримані результати дозволяють зробити висновок, що використання векторної конструкції з дволанцюговим РНК-супресором гена ProDH є ефективним для створення трансгенних рослин пшениці озимої м'якої з підвищеним рівнем толерантності до водного дефіциту.

Ключові слова: *Triticum aestivum*, *Agrobacterium*-опосередкована трансформація, дволанцюговий РНК-супресор гена проліндегідрогенази, фізіолого-біохімічні та господарські характеристики.

Сучасним напрямом створення посухостійких сортів пшениці є застосування методів

генетичної інженерії. Для цього розробляють молекулярні біотехнології, спрямовані на отримання стійких генотипів шляхом інтеграції в геном культурних рослин рекомбінантних молекул ДНК, здатних на генетичному рівні контролювати процеси адаптації/стійкості [1]. Вважають, що одним із найбільш перспективних підходів вирішення проблеми є ідентифікація та використання генів, що контролюють синтез та катаболізм проліну [2–4]. Додатковий синтез цієї амінокислоти підвищує загальну стійкість рослин до абіотичних стресів, оскільки пролін захищає мембрани, макромолекули і структурні елементи клітини, підвищуючи неспецифічну стійкість [4; 5]. Для акумуляції вільного проліну основна увага приділяється генам, що контролюють швидкість-лімітуючі ензими його синтезу та деградації. Використовують додаткове введення копій кДНК, відповідальних за його синтез (P5CS чи δ-OAT у сенсовій орієнтації) або часткову супресію ендогенних генів проліндегідрогенази (ProDH), які відповідають за його деградацію [6–9]. Ген проліндегідрогенази, пов'язаний із катаболізмом проліну, має практичне значення для генетичної інженерії, оскільки часткове пригнічення його експресії може призводити до підвищення вмісту амінокислоти і (як наслідок) рівня толерантності рослин до абіотичних стресів [10].

Відкриття коротких інтерферуючих РНК та з'ясування їх функції як можливих регуляторних молекул дало нові можливості для регуляції процесів адаптації/стійкості рослин та призвело до розробки нового напрямку генетичної інженерії – siРНК-технологій. Однак відомості, що свідчать на користь регуляторної ролі siРНК у рослин, вкрай обмежені і стосуються лише вузького кола культур [11]. Ці початкові дослідження показали перспективність технологій коротких інтерферуючих siРНК для підвищення осмотолерантності одно- та дводольних рослин. Для пригнічення експресії генів у рослин за допомогою РНК-інтерференції застосовують

© СЛИВКА Л.В., ДУБРОВНА О.В.

різноманітні генетичні конструкції. Зокрема, встановлено, що перспективним для часткової супресії гена *ProDH* є використання векторних конструкцій, у яких дволанцюговий РНК-супресор розташований як обернений повтор [12]. Припускається, що така конструкція за рахунок РНК-інтерференції є більш ефективною для збільшення рівня L-проліну.

Нами шляхом *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації в культурі *in vitro* отримано трансгенні рослини 4 нових перспективних генотипів озимої м'якої пшениці (Ук 065; Ук095/17; Ук 209h; Ук 322/17), які несуть дволанцюговий РНК-супресор гена проліндегідрогенази *Arabidopsis thaliana* та селективний ген неоміцинфосфотрансферази II (*nptII*) *E.coli* [13]. Із цих рослин шляхом самозапилення отримано рослини насінневого покоління T₂, трансгенна природа яких була підтверджена за допомогою ПЛР з праймерами, специфічними до генів *ProDH* та *nptII*. У зв'язку з цим метою нашої роботи був аналіз фізіолого-біохімічних та господарських характеристик генетично змінених рослин озимої пшениці, що містять дволанцюговий РНК-супресор гена проліндегідрогенази.

Матеріали і методи

Толерантність до дефіциту води в асептичних умовах аналізували на безгормональному агаризованому середовищі МС з додаванням селективного агента – маніту, що знижує зовнішній водний потенціал. Рослини з асептичної культури адаптували в ґрунт у квітні в умовах вегетаційного дослідження. Вирощування проводилося у вегетаційних посудинах об'ємом 10 л, наповнених ґрунтом. Ґрунт для вирощування брався однорідний, попередньо вимішувався, просіювався крізь сита з отвором 3 мм. Всі посудини наповнювалися однаковою об'ємом ґрунту.

У половині посудин вихідні та трансгенні рослини вирощували за умов нормального поливу – 70 % від повної вологості (ПВ). У другій половині посудин шляхом припинення поливу у фазу виходу в трубку вологість ґрунту зменшували до 30 % ПВ та підтримували її на цьому рівні протягом 7 діб. Вологість ґрунту контролювали гравіметричним методом. Після посухи рослини дослідного варіанта продовжували поливати, як і контрольні.

Біохімічні показники (активність проліндегідрогенази та вміст вільного проліну) вимі-

рювали у прапорцевих листках рослин на 7 добу від початку посухи. Визначення концентрації вільного проліну в тканинах проводили за методикою [14]. Активність проліндегідрогенази (ПДГ) оцінювали за допомогою методу [15] за швидкістю використання НАД⁺ на окислення проліну, вимірюючи збільшення концентрації НАДН, що утворюється упродовж одиниці часу. Показники структури зернової продуктивності досліджуваних рослин (масу зерна з рослини, кількість зерен у колосі, масу 1000 зерен) визначали у фазу повної стиглості зерна. Повторність визначення біохімічних та морфометричних показників триразова.

Результати наведено у вигляді середніх значень та стандартної похибки ($m \pm SE$). Різницю між даними вважали достовірною за $p \leq 0,05$.

Результати та обговорення

Для підтвердження активності елементів векторної конструкції зрілі зародки з насіння рослин T₂ висаджували на селективне середовище з 0,8 М маніту для визначення рівня їх толерантності до водного дефіциту. В якості контролю використовували нетрансгенні рослини вихідних генотипів. Осмотично активні речовини в першу чергу впливають на водний баланс клітин, показниками якого є тургор та ріст рослин. Трансгенні рослини зі зниженою активністю гена *ProDH* за фізіологічних умов вирощування не мали фенотипових відмінностей від вихідних. Однак на селективному середовищі МС з додаванням маніту трансгенні рослини росли швидше, розвивалися інтенсивніше, формували пагони більшого розміру та більшу кількість листків і коренів, ніж контрольні рослини. Трансформанти зберігали яскраво-зелене забарвлення на відміну від контрольних, які значно відставали в рості, мали блідо-зелене забарвлення і згодом гинули. Таким чином, рослини зі зниженою експресією гена проліндегідрогенази характеризувалися підвищеною здатністю до росту в умовах осмотичного стресу та мали кращу адаптаційну пластичність.

Для оцінки толерантності до осмотичного стресу трансформанти і контрольні рослини 4 тижні вирощували на середовищі з високим вмістом маніту (0,8 М) і на стандартному середовищі МС, а потім проводилося вимірювання сирієї маси вихідних і біотехнологічних рослин (табл. 1).

Таблиця 1. Сира маса контрольних і трансгенних рослин за фізіологічних умов та за дії 0,8 М маніту

Генотип	Сира маса рослин на середовищі МС, мг		Сира маса рослин на середовищі МС+0,8 М маніту, мг	
	контроль	трансформанти	контроль	трансформанти
Ук 065	608,2±19,3	610,4±18,4	232,2±11,2	571,5±16,7
Ук095/17	580,5±20,4	585,8±17,3	215,8±13,4	549,4±12,8
Ук 209h	578,7±19,2	590,8±18,3	221,6±17,5	540,7±13,3
Ук 322/17	604,2±16,1	602,3±19,4	233,2±18,4	585,4±17,2

З'ясовано, що за оптимальних умов (середовище МС, без додавання маніту) ріст трансгенних рослин істотно не відрізняється від контрольних. Сира маса рослин у середньому становила 590 мг, однак як трансгенні, так і контрольні (вихідні) рослини зменшували накопичення біомаси за дії стресового фактора (середовище МС з додаванням 0,8 М маніту). Під час вирощування контрольних рослин пшениці на середовищі з манітом їх ріст поступово призупинявся, тому сира маса рослин була значно нижчою – становила приблизно 225 мг. Біомаса трансгенних рослин на середовищі з манітом майже в 2,5 рази переважала цей показник у контролі. Таким чином, осмотичний стрес достовірно знижує масу контрольних рослин і не призводить до суттєвих змін сирової маси трансгенних рослин у порівнянні зі стандартними умовами. Ці результати дозволяють зробити висновок, що введення генетичної конструкції, яка пригнічує експресію гена *ProDH*, призводить до підвищення осмотичності трансгенних рослин.

Для того, щоб безпосередньо оцінити, якою мірою введена конструкція пригнічує експресію гена *ProDH*, на 7 добу посухи було проведено вимірювання активності ферменту проліндегідрогенази у трансформантів та контрольних рослин вихідних генотипів (табл. 2).

Після посухи для включення механізмів відновлення після стресу рослини рясно поливали і через добу вимірювали активність ферменту. Встановлено, що трансгенні рослини в умовах нормального поливу мають нижчий рівень активності ферменту порівняно з контролем, що зумовлено частковою супресією гена *ProDH*. У стресових умовах експресія гена дуже пригнічується і в контролі, і у трансгенних форм. Однак в умовах відновлення після стресу в контрольних рослин активність проліндегідрогенази значно підвищується, в той час як у трансформантів активність ферменту не тільки не підвищується, а стає меншою порівняно з нормальним поливом. Таким чином, трансформанти характеризуються зниженням активності ферменту проліндегідрогенази, що проявляється за зміни умов норма–стрес–норма.

Вміст вільного проліну в листках контрольних рослин за оптимальних умов поливу складав від 22,1 % до 30,7 мг %/г сирової маси, а у трансгенних був у 1,5–1,9 раза більшим: від 37,3 % до 53,7 мг %/г сирової маси (табл. 3).

В умовах посухи вміст цієї амінокислоти збільшився і у контрольних, і у трансгенних генотипів: у трансгенних рослин пшениці, що містять РНК-супресор гена *ProDH*, він варіював від 179,6 % до 247,0 мг %/г сирової маси та перевищував у 2,6–3,3 раза це значення у контрольних рослин.

Таблиця 2. Активність ферменту проліндегідрогенази в листках трансформантів покоління T₂ і у контрольних рослин вихідних генотипів

Генотип	Активність ферменту, нмоль НАДН/хв×мг білка					
	Фізіологічні умови		Умови посухи		Відновлення після стресу	
	контроль	трансформанти	контроль	трансформанти	контроль	трансформанти
Ук 065	2,8±0,4	1,8±0,3	1,3±0,2	0,6±0,1	4,8±1,1	1,0±0,1
Ук095/17	3,2±0,6	2,2±0,4	1,5±0,3	0,7±0,1	5,3±1,2	1,3±0,2
Ук 209h	2,6±0,4	1,7±0,3	1,2±0,3	0,5±0,1	4,6±1,1	0,9±0,1
Ук 322/17	3,0±0,5	2,0±0,4	1,4±0,3	0,5±0,1	5,0±1,2	1,1±0,2

Таблиця 3. Вміст вільного проліну в листках трансформантів покоління T₂ і у контрольних рослин вихідних генотипів

Генотип	Вміст вільного проліну, мг %/г сирової маси			
	Фізіологічні умови		Умови посухи	
	контроль	трансформанти	контроль	трансформанти
Ук 065	25,4±2,2	48,4±3,8	72,3±7,1	242,1±12,1
Ук095/17	30,7±2,5	53,7±4,0	85,9±7,8	247,0±12,4
Ук 209h	22,1±2,1	40,1±3,4	66,3±7,1	188,5±10,4
Ук 322/17	24,3±2,3	37,3±2,9	68,0±7,2	179,6±10,3

Таким чином, трансгенні рослини відрізнялися підвищеним вмістом L-проліну як в нормі, так і за дії стресу. Отже, наявність у трансгенних рослин дволанцюгового РНК-супресора гена *ProDH* призводить не тільки до зниження активності ферменту, а й до підвищення рівня накопичення вільного L-проліну як за фізіологічних умов, так і за умов ґрунтової посухи.

Для оцінки стійкості генетично модифікованих ліній пшениці до посухи було проаналізовано її вплив на морфометричні показники та елементи структури врожаю. Більш висока толерантність до водного дефіциту рослин T₂ у порівнянні з вихідними, по-перше, знайшла відображення в характері їх росту. В умовах водного стресу на стадії виходу в трубку середня висота вихідних рослин становила приблизно 52–55 см, а генетично змінені рослини мали середню висоту 62–65 см. Порівняльний аналіз ростових параметрів контрольних та трансгенних рослин, які вирощувалися за дії водного дефіциту, у фазу повної стиглості (табл. 4) показав, що генетично змінені генотипи переважали вихідні за цим показником на 5–6 см.

Відповідно до отриманих даних виявлено певні відмінності за показниками структури

урожайності між трансгенними лініями та контролем – рослинами вихідних генотипів, які вирощувалися за дії водного дефіциту (табл. 4). Генетично модифіковані рослини озимої пшениці зі зниженою активністю гена *ProDH* за кількістю зерен, масою зерна та масою тисячі зерен із рослини суттєво переважали відповідні значення у нетрансформованих рослин, які знаходилися в умовах дефіциту ґрунтової вологи, тоді як за кількістю та масою зерен із головного пагона вони були подібними.

Отже, у досліджених трансгенних лініях озимої м'якої пшениці з дволанцюговим РНК-супресором гена *ProDH* у відповідь на дію осмотичного стресу активно відбувалося накопичення вільного проліну. Підвищений рівень амінокислоти в трансформантів може відображати активність і ефективність використаної генетичної конструкції для супресії гена *ProDH*. Встановлено, що часткова супресія гена проліндегідрогенази супроводжується не тільки підвищенням рівня вільного проліну, а й підвищенням рівня толерантності рослин пшениці до водного дефіциту, що дозволяє висунути гіпотезу про можливість контролю осмотостійкості за рахунок зміни активності цього ферменту.

Таблиця 4. Ростові параметри та показники структури урожайності рослин вихідних генотипів та трансформованих ліній за умов посухи (30 % ПВ)

Генотип	Головний пагін		Рослина			
	кількість зерен, шт.	маса зерна, г	кількість зерен, шт.	маса зерна, г	маса 1000 зерен, г	висота, см
Вихідні генотипи						
Ук 065	36,6±2,2	1,05±0,08	93,7±3,7*	1,95±0,11*	27,0±0,6*	78,2±3,0
Ук095/17	38,8±2,8	1,12±0,07	96,5±4,0*	2,34±0,11*	20,6±0,5*	90,4±4,0
Ук 209h	37,2±3,1	1,05±0,08	89,1±4,0*	2,15±0,13*	25,3±0,5*	93,1±4,1
Ук 322/17	40,1±3,6	1,13±0,07	95,7±4,1*	2,29±0,13*	22,7±0,3*	87,1±4,2
Трансгенні лінії						
Ук 065	40,3±2,1	1,20±0,08	115,7±4,1*	2,34±0,12*	31,3±0,6*	84,6±3,0
Ук095/17	41,8±2,7	1,23±0,09	108,5±3,6*	2,73±0,11*	24,3±0,5*	95,4±4,0
Ук 209h	41,8±3,2	1,15±0,08	101,2±3,7*	2,48±0,12*	28,9±0,7*	99,4±4,4
Ук 322/17	43,3±3,7	1,24±0,08	108,4±4,2*	2,65±0,14*	25,8±0,3*	93,3±0,9

Примітка. Різниця істотна за $p \leq 0,05$: * – з вихідним генотипом.

Таким чином, аналіз фізіолого-біохімічних характеристик та господарських ознак трансгенних рослин озимої м'якої пшениці з дволанцюговим РНК-супресором гена проліндегідрогенази порівняно з нетрасгенними генотипами засвідчив підвищену толерантність до водного дефіциту біотехнологічних рослин. Виявлено позитивний зв'язок між рівнем вільного проліну та стійкістю трансгенних рослин до осмотичного стресу, що може бути пов'язано або з впливом L-проліну на експресію інших генів стресової відповіді рослин, або з позитивним впливом підвищеного вмісту цієї амінокислоти на стійкість на ранніх етапах розвитку стресу. За дефіциту ґрунтової вологи генетично змінені рослини пшениці зі зниженою активністю гена *ProDH* за показниками структури зернової продуктивності достовірно перевищували відповідні значення у нетрансформованих рос-

лин. Отже, важливим для забезпечення стабільності врожаю за дії несприятливих чинників, зокрема посухи, є визначення метаболічних стратегій, які будуть сприяти отриманню стійких генотипів шляхом інтеграції в геном культурних рослин рекомбінантних молекул ДНК, здатних контролювати процеси на генетичному рівні. Результати таких досліджень будуть корисними для використання у селекційних програмах щодо створення сортів пшениці з підвищеною толерантністю до посухи.

Висновки

Отримані результати дозволяють зробити висновок, що використання векторної конструкції з дволанцюговим РНК-супресором гена *ProDH* є ефективним для створення трансгенних рослин пшениці озимої м'якої з підвищеним рівнем толерантності до водного дефіциту.

References

- Hiei Y., Ishida Y., Komari T. Progress of cereal transformation technology mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. *Frontiers in Plant Sci.* 2014. Vol. 5. P. 1–11. doi.org/10.3389/fpls.2014.00628.
- Vendruscolo E.C., Schuster I., Pileggi M., Scapim C.A., Molinari H.B., Marur C.J., Vieira L.G. Stress-induced synthesis of proline confers tolerance to water deficit in transgenic wheat. *Plant Physiol.* 2007. Vol. 164 (10). P. 1367–1376. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2007.05.001.
- Anwar A., She M., Wang K., Riaz B., Ye X. Biological roles of ornithine aminotransferase (OAT) in plant stress tolerance: present progress and future perspectives. *Int J Mol Sci.* 2018. 19. P. 3681. https://doi.org/10.3390/ijms19113681.
- Szabados L., Savoure A. Proline: A multifunctional amino acid. *Trends Plant Sci.* 2009. Vol. 15. P. 89–97. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2009.11.009.
- Sharma S., Villamor J.G., Verslues P.E. Essential role of tissue-specific proline synthesis and catabolism in growth and redox balance at low water potential. *Plant Physiol.* 2011. Vol. 157. P. 292–304. https://doi.org/10.1104/pp.111.183210.
- Tishchenko E.N. Genetic engineering using genes of L-proline metabolism to increase the osmotolerance of plants. *Plant Physiology and Genetics.* 2013. Vol. 45 (6). P. 488–500. Retrieved from: http://dspace.nbuv.gov.ua/handle/123456789/159371. [in Russian]
- Dubrovna O.V., Stasik O.O., Priadkina G.O., Zborivska O.V., Sokolovska-Sergienko O.G. Resistance of genetically modified wheat plants, containing a double-stranded RNA suppressor of the proline dehydrogenase gene, to soil moisture deficiency. *Agricultural Science and Practice.* 2020. Vol. 7 (2). P. 24–34. https://doi.org/10.15407/agrisp7.02.024.
- Roosens N.H., Bitar F.A., Loenders K. Overexpression of ornithine-aminotransferase increases proline biosynthesis and confers osmotolerance in transgenic plants. *Mol Breed.* 2002. Vol. 9 (2). P. 73–80. https://doi.org/10.1023/A:1026791932238.
- Ibragimova Ya.S., Gerasimova S.V., Kochetov A.V. The role of the proline dehydrogenase gene in maintaining stress resistance in plants. *Plant physiology.* 2012. Vol. 59 (1). P. 99–107. https://doi.org/10.1104/pp.110.167163. [in Russian]
- Servet C., Ghelis T., Richard L. Proline dehydrogenase: a key enzyme in controlling cellular homeostasis. *Front Biosci.* 2012. Vol. 1 (17). P. 607–620. https://doi.org/10.2741/3947.
- Borsani O., Zhu J., Verslues E.P. Endogenous siRNAs derived from a pair of natural cis-antisense transcripts regulate salt tolerance in *Arabidopsis*. *Cell.* 2005. Vol. 123. P. 1279–1291. https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.11.035.
- Manavalan L.P., Chen X., Clarke J. RNAi-mediated disruption squalen synthase improves drought tolerance and yield in rice. *J Exp Bot.* 2012. Vol. 63. P. 163–175. doi: 10.1093/jxb/err258.
- Dubrovna O.V., Slivka L.V. Optimization of *Agrobacterium*-mediated transformation of perspective winter wheat genotypes *in vitro*. *Factors of experimental evolution of organisms.* 2020. Vol. 26. C. 190–195. https://doi.org/10.7124/FEEO.v26.1264. [in Ukrainian]
- Bates L.S., Waldren R.P., Teare I.D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil.* 1973. Vol. 39. P. 205–207. http://dx.doi.org/10.1007/BF00018060.
- Mattioni C., Lacerenza N.G., Troccoli A.D., De Leonardi A.M., Di Fonzo N. Water and salt stress-induced alterations in proline metabolism of *Triticum durum* seedlings. *Physiol Plant.* 1997. Vol. 101. P. 787–792. doi: 10.1111/j.1399-3054.1997.tb01064.x.

SLIVKA L.V., DUBROVNA O.V.

*Institute of Plant Physiology and Genetics of the Natl. Acad. Sci. of Ukraine,
Ukraine, 03022, Kyiv, Vasylkivska str., 31/17*

PHYSIOLOGICAL, BIOCHEMICAL AND ECONOMIC CHARACTERISTICS OF TRANSGENIC WINTER WHEAT PLANTS WITH RNA SUPPRESSOR OF THE PROLINE DEHYDROGENASE GENE

Aim. To analyze the physiological, biochemical and economic characteristics of genetically modified plants of new promising genotypes of winter bread wheat of seed generation T2 with a double-stranded RNA suppressor of the proline dehydrogenase gene. **Methods.** *Agrobacterium*-mediated transformation *in vitro*; biochemical determination of proline dehydrogenase enzyme activity and free proline content; morphometric indicators and elements of crop structure; mathematical statistics. **Results.** It is shown that transgenic plants, in contrast to control, grow on a medium with mannitol more intensely, retaining a green color. It was found that both under normal conditions and under conditions of water deficiency, plants of seed generation T2 have an increased level of free Proline in the leaves compared to control genotypes. It was found that transformants are characterized by reduced activity of the enzyme proline dehydrogenase, which is manifested by changes in normal – stress – normal conditions. Transgenic T2 plants had a higher tolerance to water deficiency compared to the original, which was reflected in the nature of their growth. In conditions of soil moisture deficiency, the yield of most transformed lines was higher compared to untransformed plants. **Conclusions.** The results suggest that the use of a vector construct with a double-stranded RNA suppressor of the *ProDH* gene is effective for creating transgenic winter bread wheat plants with increased tolerance to water deficiency.

Keywords: *Triticum aestivum*, *Agrobacterium*-mediated transformation, double-stranded RNA suppressor of the proline dehydrogenase gene, physiological, biochemical and economic characteristics.