

МИХАЛЬСЬКА С. І.<sup>✉</sup>, КОМІСАРЕНКО А. Г.

Інститут фізіології рослин і генетики НАН України,

Україна, 03022, м. Київ, вул. Васильківська, 31/17, ORCID: 0000-0003-2081-4055, 0000-0002-6644-5921

✉ [mykhalskasvitlana@gmail.com](mailto:mykhalskasvitlana@gmail.com), (050) 380-65-15

## УСПАДКУВАННЯ ОЗНАКИ СТІЙКОСТІ ДО ОСМОТИЧНИХ СТРЕСІВ У ГЕНЕТИЧНО МОДИФІКОВАНОЇ ПШЕНИЦІ

**Мета.** Дослідити успадкування трансгенів і збереження ознаки підвищеної стійкості до посухи в насінневих поколіннях генетично модифікованих рослин пшениці з дволанцюговим РНК (длРНК) супресором гена проліндегідрогенази (*pdh*). **Методи.** ПЛР, визначення вмісту вільного L-проліну (Pro) і показників структури врожаю. **Результати.** За дії осмотичного стресу відібрані рослини T4 пшениці з елементами, що утворюють длРНК супресор гена *pdh* пшениці, які зберігають ознаку підвищеної стійкості до водного дефіциту. Встановлено, що T4 рослини мали вищий вміст Pro, ніж їх вихідні форми як за нормальних умов культивування, так і водного дефіциту. Показано, що за посухи біотехнологічні рослини характеризувалися вищою зерновою продуктивністю, порівнюючи з вихідними генотипами, тоді як за умов достатнього забезпечення вологою відмінності за елементами структури врожаю були неістотними. **Висновки.** Аналіз насінневих поколінь трансгенної пшениці показав варіабельність прояву ознаки підвищеної стійкості до осмотичних стресів, що обумовлено нестабільністю рекомбінантних ДНК у поколіннях. Тестування T4 пшениці за дії осмотичного стресу показало факт успішного добору рослин з інтродукованими елементами, що утворюють длРНК супресор гена *pdh* та обумовлюють ознаку підвищеної стійкості до водного дефіциту в насінневих поколіннях.

**Ключові слова:** озима пшениця, трансгенні рослини, пролін, осмостійкість, насінневі покоління.

Проблема одержання нових сортів зернових культур є однією із найбільш пріоритетних і водночас складних задач. Тому будь-яка нова інформація, що стосується різних аспектів генетики й фізіології злаків, сприятиме поглибленню теоретичних знань про біологічний об'єкт з одного боку та пришвидшить селекційний процес з іншого.

В останні десятиліття особливе занепокоєння викликає стрімке зростання динаміки потепління, яке супроводжується відсутністю опадів, що негативно впливає на продуктивність сільськогосподарських рослин [1, 2]. Збільшення кількості ґрунтових і повітряних посух впродовж вегетації завдає значного зниження врожайності зернових культур, що вимагає розробки нових стратегій в адаптації рослин до цього стресового чинника. При цьому складність і багатокомпонентність реакції рослинного організму на водний дефіцит зумовлює значні труднощі селекції на посухостійкість. Отримання високопродуктивних сортів і гібридів культурних рослин стійких до абіотичних стресів і дослідження особливостей генетичного рівня регуляції процесів, пов'язаних з підвищенням стійкості, є актуальним і потребує комплексних фізіолого-біохімічних і молекулярно-генетичних досліджень [1–3].

На сьогодні інтенсивно проводяться роботи зі створення сільськогосподарських рослин з підвищеною стійкістю методами генетичної інженерії, а також активізувались дослідження генів, що змінюють реакцію рослин на стресові умови. При отриманні генетично модифікованих рослин, стійких до стресових факторів, аналізуються можливості трансгенезу з використанням різноманітних структурних і регуляторних генів, які можуть ефективно контролювати процеси адаптації / стійкості культурних рослин на різних етапах їх росту і розвитку [2–5]. Проводяться дослідження з виявлення, клонування і перенесення у рослини чужорідних генів, які кодують утворення різних осмопротекторів: вуглеводів, амінокислот, багатоатомних спиртів, поліамінів. Ці низькомолекулярні нетоксичні речовини сприяють поглинанню й утриманню води, а також регулюють вміст ненасичених жирних кислот у мембранах клітин, запобігають руйнуванню макромолекул білків і т. д. [6, 7]. У клітинах багатьох видів рослин функцію осмо-

© МИХАЛЬСЬКА С. І., КОМІСАРЕНКО А. Г.

літа виконує L-пролін і коливання його вмісту важливі для швидкої адаптації рослин до змін у режимі вологозабезпечення. Коли стрес виникає раптово і рослина не встигає до нього пристосуватися, то процес виживання залежить від ініціації генного механізму стресової відповіді, контролюючого синтез специфічних білків і напрацювання необхідних метаболітів, які в подальшому виконують основні захисні функції (у тому числі і проліну) [7, 8].

Нові можливості для регуляції процесів адаптації / стійкості рослин надало розуміння молекулярних основ біогенезу коротких інтерферуючих РНК і їх функції як регуляторних молекул. Молекулярні біотехнології на основі біологічного механізму управління активністю генів за допомогою коротких дволанцюгових РНК і синтезу спеціальних рибонуклеаз (РНКаз), що індукують селективну деградацію цільових РНК та / або інгібування їх трансляції чи реплікації, становлять інтерес для створення рослин з підвищеним рівнем толерантності до абіотичних стресів. Зокрема водного дефіциту за рахунок часткової супресії гена проліндегідрогенази та підвищення вмісту вільного проліну [9]. При цьому доцільність використання певних генів і регулювання їх експресії мають бути встановлені всебічним дослідженням трансгенних варіантів і їх насінневих поколінь згідно генетичних фізіолого-біохімічних і морфометричних показників, оскільки інтегровані в геном трансгени можуть ставати епігенетично-мовчазними відразу, або ж через короткий / тривалий період експресії у наступних поколіннях. Більш того, таке явище має відношення не тільки до трансгенів, але й до гомологічних ним ендогенних генів [9, 10].

Незважаючи на інтенсивні дослідження багато питань відносно функціональних взаємодій екзогенної ДНК з геномом реципієнта до кінця не встановлені. До того ж не має однозначної відповіді відносно наслідування чужорідної генетичної інформації, особливо, коли зміни в експресії ендогенних генів відбуваються шляхом посттранскрипційного сайленсингу РНК.

У зв'язку з цим метою роботи було дослідити успадкування трансгенів і збереження ознаки підвищеної стійкості до ґрунтової посухи, в результаті РНК-інтерференції гена проліндегідрогенази, у насінневих поколіннях генетично модифікованих рослин пшениці озимої за молекулярно-генетичними й фізіолого-біохімічними показниками.

## Матеріали і методи

Вихідним матеріалом для досліджень слугували насіннєві покоління Т1 та Т4 генетично змінених рослини м'якої озимої пшениці, отриманих в Інституті фізіології рослин і генетики НАН України на основі нових селекційно цінних генотипів (УК 322/17, УК 95/17). Генетичну модифікацію здійснювали шляхом *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації *in planta* з використанням векторної конструкції pBi2E, створеної на основі гена проліндегідрогенази *Arabidopsis thaliana* L. Вона складається із фрагментів першого екзона (*ex1*) та інтрона (*int*) гена *pdh* арабідопсису, який кодує фермент катаболізму L-проліну. При цьому два фрагменти екзона *pdh1* розташовані як обернений повтор, що включає фрагмент інтрона. Розміщення фрагментів гена проліндегідрогенази в антисенсовій орієнтації приводить до пригнічення його експресії шляхом посттранскрипційного сайленсингу РНК [11].

Селекцію генетично модифікованих рослин проводили за маркерною ознакою стійкості до канаміцинсульфату (100 мг/л) та ознакою набутою у результаті часткової супресії гена *pdh* – підвищеною стійкістю до водного дефіциту, створеного непроникаючим осмотиком манітолом (0,8 М/л). Молекулярно-генетичний аналіз на наявність трансгенів проводили ПЛР-методом [11].

В умовах вегетаційного досліді рослини насінневих поколінь Т4, відібрані після позитивного результату молекулярного генетичного аналізу на наявність трансгенів, висаджували у 24 посудини об'ємом 10 л, заповнені ґрунтовою сумішшю (ґрунт : пісок = 3 : 1). У половині посудин досліджувані варіанти (по 10 рослин вихідних генотипів і по 10 рослин кожної трансгенної лінії) вирощували за умов нормального водозабезпечення – 70 % повної вологоємності (ПВ). В іншій половині посудин, де вирощувалась така ж кількість рослин, вологість ґрунту знижували до 30 % ПВ, шляхом припинення поливу у фазу виходу прапорцевого листка і підтримували впродовж 10 діб. Після закінчення стресового стану рослини культивували за нормальних умов (70 % ПВ) до фази повної стиглості зерна.

Вміст вільного проліну визначали у прапорцевих листках головного та бічних пагонів методом заснованим на утворенні забарвленого продукту взаємодії між L-проліном і нінгідри-

ном за оптимальних умов поливу (70 % ПВ) і на 7 добу зневоднення (30 % ПВ) [12].

Елементи господарської продуктивності трансгенних рослин і їх вихідних форм досліджували за нормальних умов вирощування і після дії водного дефіциту. Аналіз структури врожаю здійснювали у період повної стиглості зерна в 3-кратній повторюваності.

### Результати та обговорення

Встановлення факту успішного успадкування перенесених генів у насінневих поколіннях генетично модифікованих рослин проводили їх тестуванням на селективному середовищі з канаміцинсульфатом і в умовах дії осмотичного стресу, створеного додаванням до поживного середовища непроникаючого осмотику маніту (рис. 1).

Застосування такої комбінації методів тестування є доцільним підходом, який може виявити переваги нової форми над вихідною і встановити залежність пов'язану з рівнем експресії генів і стресостійкістю рослин. Крім того, показано, що такі дослідження дозволяють відразу відбирати варіанти, стійкі до водного дефіциту [5, 7].

Важливою умовою генетичної модифікації рослин є успішне успадкування і стабільна експресія перенесених генів. Слід відмітити, що тестування вже Т1 покоління у наджорстких умовах селекції (0,8 М маніту) спричиняло як загибель контрольних варіантів, так і зменшувало відсоток виходу трансгенних форм, загалом до 80–85 % у залежності від генотипу. Оскільки на сьогодні немає однозначної відповіді відносно наслідування чужорідної генетичної інфор-

мації, особливо коли зміни в експресії ендогенних генів відбуваються шляхом посттранскрипційного сайленсингу РНК, скоріш за все причиною такого ефекту є те, що стійкість до осмотичних стресів, отриманих нами генетично модифікованих рослин, базується на механізмі РНК інтерференції, який може бути нестабільним і приводити до зміни прояву ознаки в наступних поколіннях. На сьогоднішній день добре відомий механізм інактивації трансгенів, який включається на посттранскрипційному рівні і пов'язаний із руйнуванням мРНК чужорідного гена [9, 13].

При аналізі Т4 проростків пшениці показано, що тільки близько 60–65 % із випадкової вибірки досліджуваних рослин, отриманих у результаті розмноження Т1 з підтвердженою інтеграцією трансгена, витримували умови наджорсткого стресу створеного дією маніту. Інактивація гетерологічних генів може виникати в результаті спонтанних перебудов рекомбінантних молекул ДНК, коли інтродукований ген втрачає свою активність хоча і залишається частиною геному рослини реципієнта, що особливо проявляється у подальших поколіннях. Це вказує на те, що рослина має здатність активно протистояти експресії чужорідної ДНК [14].

За скринінгу великої кількості генетично модифікованих рослин Т1–Т4, в умовах селективного тиску канаміцинсульфату, були відібрані варіанти молекулярно-генетичний аналіз яких показав, що в деяких зразках за присутності фрагмента екзона гена проліндегідрогенази арабідопсису не було зафіксовано інтрона цільового гена (рис. 2).

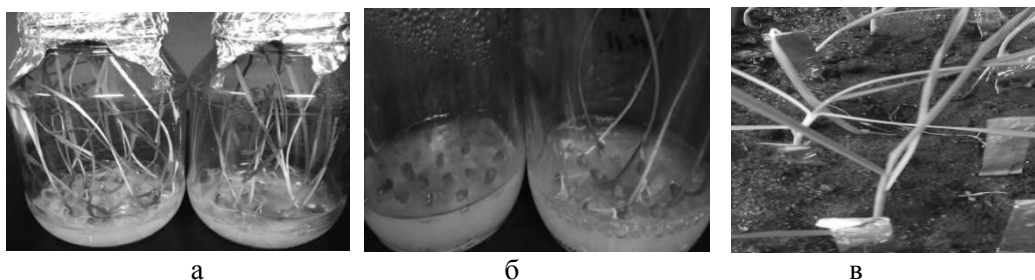


Рис. 1. Добір трансформованих рослин пшениці на поживних середовищах із селективною концентрацією канаміцину (а), маніту (б) і дорощування у вегетативних посудинах (в).

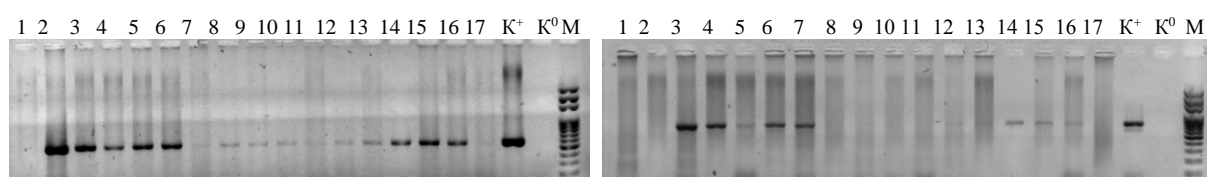


Рис. 2. Електрофореграма продуктів ампліфікації ДНК пшениці з праймерами на визначення гена *pdh ex1* та *pdh int*. Доріжки: 1–17 – зразки ДНК пшениці (1 – дикий тип); K+ – контроль позитивний LBA4404; K<sub>0</sub> – TE буфер; M – маркер молекулярної маси ДНК Ladder Mix.

Мозаїчний прояв трансгена та повна його втрата може бути як результатом РНК-інтерференції чужорідної ДНК, так і відображенням встроювання неповної копії векторної конструкції. Це характерне явище при трансгенезі, яке є джерелом мутаційних змін генетично модифікованих рослин, що проявляється в подальших поколіннях [5, 13, 14]. При стресовому навантаженні, створеному непроникаючим осмотиком манітом, життєздатними залишалися тільки рослини молекулярно-генетичний аналіз яких показав наявність всіх елементів, що утворюють дволанцюговий РНК супресор гена проліндегідрогенази пшениці (рис. 3). Тобто такий спосіб оцінки дозволяє встановити наявність трансгенів, які викликають зміни в експресії гена *pdh*, що впливають на осмотолерантність і безпосередньо відбирати варіанти з підвищеною стійкістю до водного дефіциту.

Встановити рівень осмотолерантності рослин, який залежить від функціональності трансгена та пов'язаний зі змінами акумуляції Pro, дає можливість культивування рослин за дії водного дефіциту. При аналізі Т4 пшениці, в яких встановлено наявність трансгенів, за нормального поливу в умовах вегетаційного дослідження вміст проліну в листках коливався від  $24,4 \pm 2,2$  до  $38,3 \pm 3,1$  мг % / г сирової маси. Це вище за показники вихідних форм у середньому в 1,8 раза, які за цих же умов культивування становили  $13,2 \pm 1,5$  і  $19,4 \pm 2,0$  мг % / г сирової маси, для генотипів УК 322/17 та УК 95/17 відповідно. В умовах посухи вміст амінокислоти збільшувався як у нетрансформованих, так і в генетично модифікованих рослин. Причому, тенденція більшої акумуляції проліну в трансгенних рослин зберігалась незважаючи на те, що за стресового стану у вихідних форм вміст Pro, збільшувався в 3,1–4,0 раза, тоді як у трансформованих тільки у 1,8–2,3 раза. Після відновлення поливу рівень амінокислоти у вихідних генотипів знижувався

до близько 50 % від максимальних показників, тоді як у біотехнологічних рослин його рівень зменшувався в середньому на 20 %. Це дає підстави стверджувати, що накопичення проліну в трансгенних рослин Т4 відбувається не тільки за рахунок його синтезу, а й за рахунок часткової супресії гена проліндегідрогенази. Особливо це важливо за стресових умов, коли продукти катаболізму Pro можуть виступати індукторами експресії осмочутливих генів та запускати процеси адаптаційних змін, які мають відобразитись на продуктивності рослин.

Оцінка елементів структури врожайності досліджуваних варіантів рослин показала, що за умов достатнього вологозабезпечення відмінності між ними були не суттєвими, тоді як за водного дефіциту спостерігались достовірні розбіжності за рядом показників (табл. 1).

Так за кількістю зерен з головного пагона рослини вихідних і трансгенних форм мали незначну різницю. Проте маса зерна з головного пагона у вихідній формі УК 322/17 становила 72,4 %, порівнюючи з варіантом 70 % ПВ, а для генетично модифікованих рослин 88,2 %. Щодо маси тисячі зерен, то також більш вираженим зниженням (до 83 %) характеризувалась вихідна форма. У трансгенних рослин воно було не суттєвим і становило близько 95 % від результатів отриманих за нормального поливу. Аналогічна тенденція спостерігалась і для Т4 рослин УК 95/17. Вплив посухи на досліджувані варіанти відобразився і на їх рості, який є інтегральною фізіологічною характеристикою при оцінюванні стійкості до дії стресових факторів. Показано, що в умовах нормального поливу вихідні генотипи достовірно не відрізнялись по висоті від генетично модифікованих форм, тоді як за стресу, створеного припиненням поливу, трансгенні рослини на 6–8 см випереджували в рості їх вихідні форми.

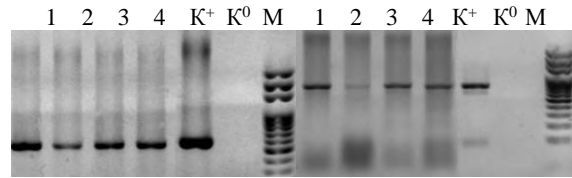


Рис. 3. Електрофореграма продуктів ампліфікації ДНК пшениці з праймерами на визначення гена *pdh ex1* та *pdh int*. Доріжки: 1–4 – зразки ДНК рослин пшениці; K<sup>+</sup> – позитивний контроль; K<sup>0</sup> – ТЕ буфер; М – маркер молекулярної маси ДНК Ladder Mix.

Таблиця 1. Ростові показники та елементи структури врожаю рослин вихідних генотипів (ВГ) і генетично модифікованої (Т4) пшениці озимої за умов достатнього вологозабезпечення (70 % ПВ) і посухи (30 % ПВ)

Генотип		Кількість зерен, шт.	Маса зерна, г	Маса 1000 зерен, г	Висота, см
70 % ПВ					
УК 322/17	ВГ	48,10 ± 1,33	2,22 ± 0,06	46,21 ± 0,46	94,1 ± 3,0
	Т4	48,80 ± 1,52	2,29 ± 0,06	47,00 ± 0,50	98,8 ± 3,2
УК 95/17	ВГ	45,70 ± 1,50	2,08 ± 0,06	45,61 ± 0,57	85,9 ± 3,2
	Т4	47,00 ± 1,14	2,17 ± 0,04	46,28 ± 0,51	89,6 ± 3,7
30 % ПВ					
УК 322/17	ВГ	43,60 ± 1,19#	1,66 ± 0,05#	39,57 ± 0,47#	85,3 ± 2,1#
	Т4	46,30 ± 1,86	2,02 ± 0,08*	43,42 ± 0,46*,#	93,3 ± 0,9*
УК 95/17	ВГ	41,30 ± 1,41	1,58 ± 0,04#	38,34 ± 0,66#	76,6 ± 1,5#
	Т4	43,40 ± 0,82	1,86 ± 0,04*,#	42,79 ± 0,50*,#	82,3 ± 2,7*

Примітки: різниця істотна при  $p \leq 0,05$ : \* – з вихідним генотипом, # – з варіантом 70 % ПВ.

Отже, за дії осмотичного стресу відібрані рослини Т4 з інтродукованими елементами, що утворюють дволанцюговий РНК супресор гена проліндегідрогенази пшениці, зберігали ознаку підвищеної стійкості до водного дефіциту. Генетично модифіковані рослини мали вищий вміст вільного проліну, ніж їх вихідні форми як за нормальних, так і стресових умов культивування. За дії посухи біотехнологічні рослини характеризувалися вищою зерновою продуктивністю, порівнюючи з вихідними генотипами, тоді як при достатньому вологозабезпеченні відмінності за елементами структури врожайності між досліджуваними варіантами рослин пшениці були неістотними.

## Висновки

Аналіз насінневих поколінь генетично модифікованої пшениці показав варіабельність прояву ознаки підвищеної стійкості до осмотичних стресів, що обумовлено нестабільністю рекомбінантних ДНК. При цьому тестування трансгенних форм пшениці за дії осмотичного стресу показало факт успішного добору рослин з інтродукованими елементами, що утворюють дволанцюговий РНК супресор гена проліндегідрогенази пшениці та обумовлюють ознаку підвищеної стійкості до водного дефіциту в наступних поколіннях.

## References

- Raza A., Razzaq A., Mehmood S. S., Zou X., Zhang X., Lv Y., Xu J. Impact of climate change on crops adaptation and strategies to tackle its outcome: A review. *Plants*. 2019. Vol. 8. P. 34. doi: 10.3390/plants8020034.
- Hossain A., Skalicky M., Brestic M., Maitra S., Ashraful Alam M., Syed M. A., Hossain J., Sarkar S., Saha S., Bhadra P., Shankar T., Bhatt R., Kumar C. A., EL Sabagh A., Islam T. Consequences and mitigation strategies of abiotic stresses in wheat (*Triticum aestivum* L.) under the changing climate. *Agronomy*. 2021. Vol. 11 (2). P. 241. doi: 10.3390/agronomy11020241.
- Morgun V. V., Dubrovna O. V., Morgun B. V. Modern biotechnologies for stress-resistant wheat plants. *Fiziologiya rasteniy i genetika*. 2016. Vol. 48 (3). P. 196–213. doi: 10.15407/frg2016.03.196. [in Ukrainian]
- Morgun B. V., Tishchenko E. N. Molecular biotechnology to improve the resistance of cultivated cereals to osmotic stress. *Kyiv : Logos*, 2014. 219 s. [in Russian]
- Sergeeva L. E., Mykhalska S. I., Komisarenko A. G. Modern biotechnologies for increasing plant resistance to osmotic stresses. *Kyiv : Kondor*, 2019. 160 s. [in Russian]
- Mansour M. M. F., Ali E. F. Evaluation of proline functions in saline conditions. *Phytochemistr*. 2017. Vol. 140. P. 52–68. doi: 10.1016/j.phytochem.2017.04.016.

7. Dubrovna O. V., Priadkina G. O., Mykhalska S. I., Komisarenko A. G. Drought-tolerance of transgenic winter wheat with partial suppression of the proline dehydrogenase gene. *Regulatory Mechanism sin Biosystems*. 2022. Vol. 13 (4). P. 385–392. doi: 10.15421/022251.
8. Kolupaev Y. E., Vainer A. A., Yastreb T. O. Proline: physiological functions and regulation of its content in plants under stress conditions. The bulletin of Kharkiv national agrarian university. *Ser. Biol.* 2014. Vol. 2. (32). P. 6–22. Retrieved from: <https://repo.btu.kharkov.ua/handle/123456789/9047>. [in Russian]
9. Bharathi J., Anandan R., Benjamin L., Muneer S., Prakash M. Recent trends and advances of RNA interference (RNAi) to improve agricultural crops and enhance their resilience to biotic and abiotic stresses. *Plant Physiol Biochem*. 2023. Vol. 194. P. 600–618. doi: 10.1016/j.plaphy.2022.11.035.
10. Dubrovna O. V., Mykhalska S. I., Komisarenko A. G. Use of RNA Interference Technology for Improving Economically Valuable Traits of Cereal Crops. *Cytology and Genetics*. Vol. 57 (6). P. 587–610. doi: 10.3103/s0095452723060026.
11. Tishchenko O. M., Komisarenko A. G., Mykhalska S. I., Sergeeva L. E., Adamenko N. I., Morgun B.V., Kochetov A. V. *Agrobacterium*-mediated transformation of sunflower (*Helianthus annuus* L.) *in vitro* and *in planta* using the LBA4404 strain harboring binary vector pBi2E with dsRNA-suppressor of proline dehydrogenase gene. *Cytology and Genetics*. 2014. Vol. 48 (4). P. 19–30. doi: 10.3103/S0095452714040094.
12. Mykhalska S. I., Komisarenko A. G., Kurchii V. M., Bronnikova L. I. Physiological and biochemical characteristics of genetically modified winter wheat. *Factors of experimental evolution of organisms*. 2023. Vol. 32. P. 109–114. doi: 10.7124/FEEO.v32.1545.
13. Dalakouras A., Wassenegger M., Dadami E., Ganopoulos I., Pappas M., Papadopoulou K. Genetically modified organism-free RNA interference: exogenous application of RNA molecules in plants. *Plant Physiology January*. 2020. Vol. 182 (1). P. 38–50. doi: 10.1104/pp.19.00570.
14. Abiri R., Valdiani A., Maziah M., Shaharuddin N. A., Sahebi M., Yusof Z. N. B., Atabaki N., Talei D. A critical review of the concept of transgenic plants: Insights into pharmaceutical biotechnology and molecular farming. *Curr Issues Mol Biol*. 2016. Vol. 18. P. 21–42.

**MYKHALSKA S. I., KOMISARENKO A. G.**

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

**INHERITANCE OF SIGNS OF RESISTANCE TO OSMOTIC STRESSES IN GENETICALLY MODIFIED WHEAT**

**Aim.** To investigate the inheritance of transgenes and the preservation of increased resistance to drought in the seed generations of genetically modified wheat plants with a double-stranded RNA (dsRNA) suppressor of the proline dehydrogenase (*pdh*) gene. **Methods.** PCR, determination of free L-proline (Pro) content and yield structure indicators. **Results.** Under the influence of osmotic stress, T4 wheat plants were selected with elements that form dsRNA suppressor of the *pdh* gene of wheat, which retain the sign of increased resistance to water deficit. It was found that T4 plants had a higher content of Pro than their original forms under both normal cultivation conditions and water deficit. It is shown that during droughts, biotechnological plants were characterized by higher grain productivity compared to the original genotypes, while under conditions of sufficient moisture provision, the differences in the elements of the yield structure were insignificant. **Conclusions.** The analysis of seed generations of transgenic wheat showed variability in the manifestation of signs of increased resistance to osmotic stress, which is due to the instability of recombinant DNA in generations. Testing of T4 wheat under the effects of osmotic stress showed the fact of successful selection of plants with introduced elements that form dsRNA suppressor of the *pdh* gene and cause the sign of increased resistance to water deficit in seed generations.

**Keywords:** winter wheat, transgenic plants, proline, osmotic resistance, seed generations.