

ЗАДОРЖНА О. А.

Інститут рослинництва імені В. Я. Юр'єва НААН,
Україна, 61060, м. Харків, проспект Героїв Харкова, 142, ORCID; 0000-0002-4424-0482,
e-mail: olzador@ukr.net

ГЕНЕТИЧНИЙ КОНТРОЛЬ ФОРМУВАННЯ НАСІННЯ

Мета. Пояснити довговічність насіння рису з позицій генетичного контролю умов його формування при зміні клімату. **Методи.** Аналіз сучасного стану наукових досліджень генетичного контролю формування насіння, лабораторні дослідження схожості насіння рису, моніторинг метеорологічних умов формування насіння у різні роки репродукції, статистична обробка отриманих результатів. **Результати.** Проаналізована довговічність насіння рису різних років репродукції за умов формування при зміні клімату. Встановлена менша довговічність дослідного насіння за умов його формування за більшої кількості опадів. Обговорюється вплив генетичного контролю, факторів транскрипції на формування зародка насіння та запасних поживних речовин. **Висновки.** Умови формування насіння рису під час більшої кількості опадів негативно вплинули на його довговічність навіть за оптимальних умов середньострокового зберігання. Для доведення зміни транскрипційної регуляції синтезу певних речовин, необхідних для формування та розвитку насіння за цих умов, потрібні додаткові дослідження.

Ключові слова: генофонд, транскрипційні фактор, рис, насіння.

Для довгострокового збереження генофонду насіння крім оптимальних умов зберігання [1] важливе значення мають як генетичний контроль формування насіння, так і процесів, які відбуваються під час його зберігання.

На сучасному рівні досліджень відомо, що головними регуляторами для росту й розвитку рослин, відповіді на стреси є фактори транскрипції. Важливу роль вони відіграють і при регулюванні розвитку насіння. Часто транскрипційні фактори (ТФ) можуть виконувати подібні функції при формуванні насіння. Наприклад, родини LEC2/FUS3/ABI3 та NEMO ACTIVATOR PROTEIN3 можуть ініціювати ембріональний розвиток насіння рослин. Навпаки, деякі транс-

крипційні фактори цієї ж родини відіграють повністю протилежну роль. Так, транскрипційні фактори AtMYB76 та AtMYB89 інгібують накопичення в насінні олії, у той час, як AtMYB96 сприяє накопиченню жирних кислот у насінні модельного об'єкту *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. [2].

На модельній рослині *A. thaliana* встановлено, що розвиток насіння залежить від просторово-часової експресії різних генів, що беруть участь у різних процесах формування насіння, включаючи поділ клітин, диференціацію, налив насіння, висихання та досягання.

У зв'язку з цим контролювання просторово-часової активності та рівнів експресії таких генів є надзвичайно важливим і є результатом регуляції їхньої транскрипції різними ТФ [3]. При розвитку ембріона насіння виділяють дві основні стадії морфогенез та досягання. Якщо на першій стадії спостерігається висока активність поділу клітин та їх диференціація, що сприяє створенню основних структур ембріона. Потім процеси проліферації припиняються і відбуваються досягання ембріона. Під час другої стадії спостерігається накопичення запасних поживних речовин: вуглеводів, білків, жирних кислот. Усі ці процеси знаходяться під контролем транскрипційних факторів. Зокрема, встановлено, що LEAFY COTYLEDON1 (LEC1) є центральним регулятором, що контролює різні аспекти розвитку ембріона та ендосперма та є ТФ, який сприяє епігенетичному перепрограмуванню під час ембріогенезу [4]. LEC1 є новою субодиницею Y (NF-Y) ТФ, який накопичується переважно в ембріоні та ендоспермі ще під час розвитку насіння [5].

Складність розвитку насіння припускає, що клітинні процеси, які лежать в основі специфічних функцій насіння повинні бути дуже добре скоординовані як у часі, так і просторово. Початок і завершення цих процесів значною мірою контролюються змінами в експресії генів.

© ЗАДОРЖНА О. А.

Тому розуміння механізмів, які контролюють експресію генів, може бути використано для модифікації процесів, що відбуваються під час розвитку насіння, і, потенційно, покращити якість насіння багатьох важливих видів сільсько-господарських культур [4].

Процеси експресії генів у свою чергу будуть впливати на особливості формування насіння, що сприятиме його довговічності під час зберігання. Встановлені профілі мРНК цілого насіння та/або насінневих фрагментів на різних стадіях розвитку у кількох видів рослин дозволили отримати фундаментальне уявлення про процеси та регуляторні механізми, що контролюють розвиток насіння [6-8].

В умовах модельного дослідження показано, характер експресії генів під час початку розвитку насіння. Відзначені просторові відмінності в експресії генів в частинах насіння та часові відмінності у стадіях розвитку насіння. Найбільш помітною зміною вважають значне пере-програмування генів, що відбувається в ембріоні та ендоспермі насіння під час переходу між фазою морфогенезу та фазою досягання насіння [9]. Геномний аналіз місць зв'язування LEC1 на вище розташованих ділянках генів на таких об'єктах як соя та *A. thaliana* виявив чіткий набір мотивів послідовностей ДНК, які були в їхніх промоторних ділянках [10].

Досягання насіння є важливою фазою розвитку насіння, оскільки воно забезпечує успішність подальшого майбутнього репродукування, накопичуючи поживні речовини для майбутнього проростка, допомагаючи протистояти висиханню та сприяючи поширенню насіння [4]. Зараз визначено та охарактеризовано декілька ТФ, пов'язаних з фазою стиглості насіння на прикладі модельної рослини *A. thaliana*. Серед них — LAFL [LEAFY COTYLEDON1 (LEC1), ABSCISIC ACID INSENSITIVE3 (ABI3), FUSCA3 (FUS3), та LEC2]. Ці фактори продемонстрували, що відіграють центральну роль по більшості аспектів досягання насіння, включаючи накопичення запасних поживних речовин, здатність до витримування висихання та створення стану спокою [3, 4].

Дослідження накопичення запасних поживних речовин у насінні переважно зосереджені на олії, запасних білках та крохмалі. Описані родини ТФ AP2-EREBP та DOF, LEC2/FUS3/ABI3 (AFL) регуляторної мережі та окремі ТФ формування запасних поживних речовин.

Відомо, що транскрипційні фактори можуть як негативно, так і позитивно впливати на накопичення олії в насінні, регулюючи гени, що беруть участь у шляху синтезу олії, а також гени, пов'язані зі шляхами її накопичення та транспортування. AtWRI1 може збільшити вміст олії в арахісі (*Arachis hypogaea* L.) та змінити склад жирних кислот [11]. Гомологи ТФ AtWRI1 знайдені і в інших рослинах. Наприклад, GhWRI1 ізольований з бавовнику (*Gossypium hirsutum* L.) та CoWRI1 — з кокосу (*Cocos nucifera* L.) можуть одночасно позитивно регулювати вміст олії в насінні. ТФ, які позитивно регулюють накопичення олії, можуть негативно регулювати процес її мобілізації [3, 11]. Крім олії, під час досягання насіння накопичується група запасних білків: альбумінів у дводольних і гліадинів у однодольних [3].

Уміст крохмалю в насінні безпосередньо пов'язаний з врожайністю та якістю зерна. Насіння зернових культур переважно складається з крохмалю, який є основним компонентом маси насіння. Так у рисі AP2-EREBP ТФ Rice Starch Regulator1 (RSR1) може негативно регулювати біосинтез крохмалю в насінні [3, 10]. Під контролем ТФ знаходиться ознака скловидності рису, яка є комплексною та кількісною, що регулюється багатьма генами. Детально молекулярний механізм цього генетичного контролю ще з'ясовується [12]. Погіршення якості насіння під час зберігання призводить до зниження схожості, життєздатності та нерівномірної появи сходів. Швидкість старіння залежить від умов зберігання та генетичних факторів [13].

Інформація по генетичному контролю формування насіння культурних рослин, яка сприятиме його довговічності при зберіганні дуже обмежена, але на практичні результати свідчать про велику актуальність цих питань. Метою даної роботи є спроби пояснення довговічності насіння рису з позицій генетичного контролю умов його формування при змінах клімату.

Матеріали і методи

Матеріалом для досліджень було насіння зразків рису subsp. *japonica* var. *nigro-apiculata* Gust. Сорту Мутант 428, що вирощувалось у південному степу України (Херсонська область) у 1995, 1997, 1998, 2001 та 2002 роках. Кількість опадів та середньомісячна температура років вирощування під час наливу зерна наведені на рис. 1.

Насіння зразків рису цього сорту перед закладанням на зберігання висушували повітряним потоком за температури не вище 25°C та відносної вологості 25 % до рекомендованої вологості насіння 8 %. Після висушування насіння поміщали в герметичні пакети з багатошарової фольги та зберігали за температури 4°C. Контроль схожості насіння дослідних зразків на час закладання та при під час моніторингу при зберіганні застосовували відповідні методики [12], які передбачають пророшування між аркушами фільтрувального паперу за змінної температури 20–30 С. Результати обробляли за допомогою методів варіаційної статистики [14].

Результати та обговорення

Результати моніторингу схожості насіння зразка рису Мутант 428 свідчать про різну довговічність насіння, вирощеного у різні роки репродукції. Уже через п'ять років зберігання за

температури 4°C спостерігали зниження схожості насіння 1995 року репродукції на 21 %, а 1997 року – 13 %. Для насіння 1998, 2001 та 2002 років репродукції не спостерігали відмін схожості від вихідної через 10 років зберігання насіння за цих же умов (рис. 2). Вважаємо, що це пов'язано з більшою кількістю опадів у період формування й наливу насіння у 1995 та 1997 роках, яка у липні цих років майже у 25 разів, а у серпні – у 5,6 разів перевищувала середній показник за липень 1998, 2001 та 2002 років (рис. 1), що, у свою чергу, впливало на довговічність насіння за зберігання. Як відомо, для інших культур, метеорологічні умови вирощування насіння можуть впливати на експресію генів, що в свою чергу впливає на процеси розвитку насінини та накопичення поживних речовин [15]. Наявна інформація про ці процеси поки дуже обмежена.

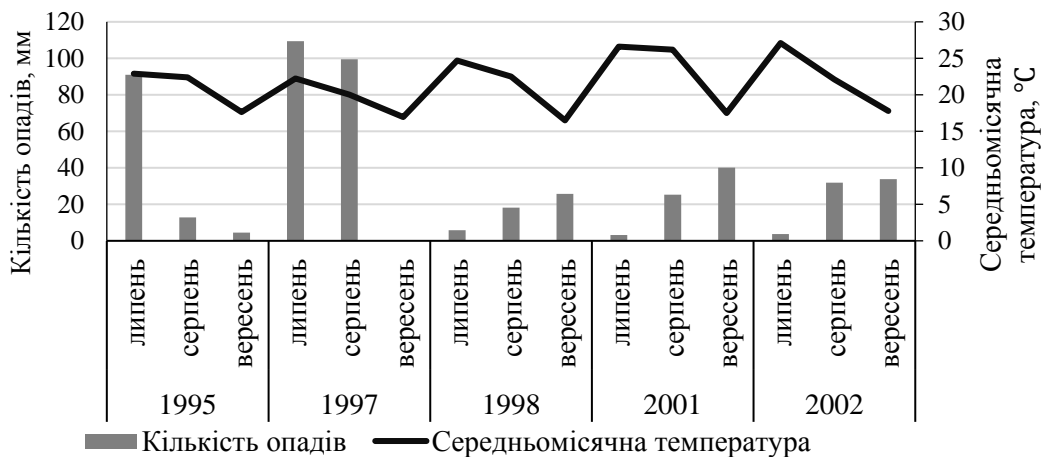


Рис. 1. Метеорологічні умови вирощування насіння рису 1995–2002 рр.

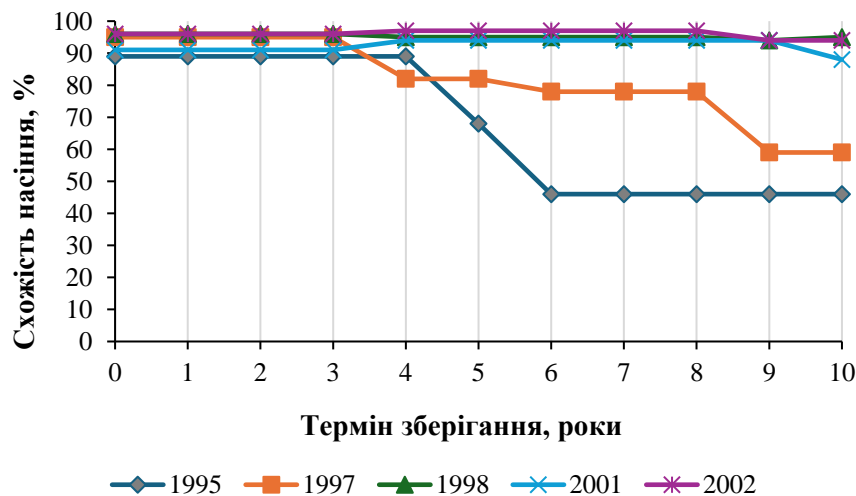


Рис. 2. Схожість насіння рису Мутант 428, вирощеного у 1995-2002 рр.

Висновки

На підставі вищезазначеного можна свідчити, що умови формування насіння рису під час більшої кількості опадів негативно вплинули на довговічність насіння навіть при оптимальних умовах середньострокового зберігання. Можна припустити, що зміненому формуванню зародка та запасних поживних речовин могли сприяти зміни транскрипційного контролю певних генів. Для доведення зміни транскрипційної регуляції синтезу певних речовин за цих умов потрібні додаткові дослідження. Очевидно, що

ТФ є важливими членами регуляторних мереж, які беруть участь у багатьох біологічних процесах, включаючи розвиток насіння. Тому механізми, за допомогою яких ці ТФ виконують свою функцію, включаючи взаємодію з іншими білками та цільовими промоторами, нададуть розуміння цього складного процесу розвитку. На сьогоднішній день за допомогою прямого та зворотного генетичного аналізу було ідентифіковано декілька ТФ, що беруть участь у розвитку насіння [3].

References

1. Genebank Standards for Plant Genetic Resources for Food and Agriculture. 2014. Rev. ed. Rome. Retrieved from: www.fao.org/3/a-i3704e.pdf.
2. Su L., Wan S., Zhou J., Shao Q. S., Xing B. Transcriptional regulation of plant seed development. *Phys Plant*. 2021. Vol. 173(4). P. 2013–2025. doi:10.1111/ppl.13548
3. Verma S., Attuluri V. P. S., Robert H. S. Transcriptional control of *Arabidopsis* seed development. *Planta*. 2022. Vol. 255 (4). P. 90. doi: 10.1007/s00425-022-03870-x.
4. Jo L., Pelletier J. M., Harada J. J. Central role of the LEAFY COTYLEDON1 transcription factor in seed development. *J Integr Plant Biol*. 2019. Vol. 61(5). P. 564–580. doi: 10.1111/jipb.12806
5. Gnesutta N., Saad D., Chaves-Sanjuan A., Mantovani R., Nardini M. Crystal structure of the *Arabidopsis thaliana* LIL/NFYC3 histone-fold dimer reveals specificities of the LEC1 family of NF-Y subunits in plants. *Mol Plant*. 2017. Vol. 10 (4). P. 645–648. doi: 10.1016/j.molp.2016.11.006
6. Gonzalez-Morales S. I., Chavez-Montes R. A., Hayano-Kanashiro C., Alejo-Jacuinde G., Rico-Cambron T. Y., de Folter S., HerreraEstrella L. Regulatory network analysis reveals novel regulators of seed desiccation tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2016. Vol. 113. E5232–5241. doi: 10.1073/pnas.1610985113.
7. Huang J., Deng J., Shi T., Chen Q., Liang C., Meng Z., Zhu L., Wang Y., Zhao F., Yu S., Chen Q. Global transcriptome analysis and identification of genes involved in nutrients accumulation during seed development of rice tartary buckwheat (*Fagopyrum tararicum*). *Sci Rep*. 2017. Vol. 7. P. 11792. doi: 10.1038/s41598-017-11929-z.
8. Rangan P., Furtado A., Henry R. J. The transcriptome of the developing grain: A resource for understanding seed development and the molecular control of the functional and nutritional properties of wheat. *BMC Genomics*. 2017. Vol. 18. P. 766. doi: 10.1186/s12864-017-4154-z.
9. Chhun T., Chong S. Y., Park B. S., Wong E. C., Yin J. L., Kim M., Chua N. H. HSI2 repressor recruits MED13 and HDA6 to downregulate seed maturation gene expression directly during *Arabidopsis* early seedling growth. *Plant Cell Physiol*. 2016. Vol. 57 (8). P. 1689–1706. doi: 10.1093/pcp/pcw095.
10. Ruta V., Longo C., Lepri A., Angelis V. D., Vittorioso P. The DOF transcription factors in seed and seedling development. *Plants (Basel)*. 2020. Vol. 9 (2). P. 218. doi: 10.3390/plants9020218.
11. Tang G., Xu P., Ma W., Wang F., Shan L. Seed-specific expression of AtLEC1 increased oil content and altered fatty acid composition in seeds of peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Front Plant Sci*. 2018. Vol. 9: 260. doi: 10.3389/fpls.2018.00260.
12. Xie Q., Xu J., Huang K., Su Yi, Tong J., Huang Z., Huang C., Wei M., Lin W., Xiao L. Dynamic formation and transcriptional regulation mediated by phytohormones during chalkiness formation in rice. *BMC Plant Biol*. 2021. Vol. 21. P. 308. doi: 10.1186/s12870-021-03109-z.
13. Manjunath Prasad C. T., Kodde J., Angenent G. C., Hay F. R., McNally K. L., Groot S. P. C. Identification of the rice Rc gene as a main regulator of seed survival under dry storage conditions. *Plant Cell Environ*. 2023. Vol. 46(8). P. 1962–1980. doi: 10.1111/pce.14581.
14. DSTU 4138-2002. 2003. Crop seeds. Methods of quality determination. Kyiv: Derzhpozhvstandart Ukrainy. 173 p. [in Ukrainian]
15. Dupont F. M., Altenbach S. B. Molecular and biochemical impacts of environmental factors on wheat grain development and protein synthesis. *J Cereal Sci*. 2003. Vol. 38 (2). P. 133–146. doi: 10.1016/S0733-5210(03)00030-4.

ZADOROZHNA O. A.

Plant Production Institute named after V. Ya. Yuriev of NAAS,
Ukraine, 61060, Kharkiv, Heroiv Kharkova ave., 142

GENETIC CONTROL OF SEED FORMATION

Aim. To explain the rice seeds longevity from the point of view of genetic control of their formation under climate change. **Methods.** Analysis of the current state of scientific research on genetic control of seed formation, laboratory studies of rice seed germination, monitoring of meteorological conditions of seed formation in different years of

reproduction, results statistical processing. **Results.** Rice seed longevity of different reproduction years under conditions of formation in climate change context was analysed. Lower longevity of experimental seeds under formation conditions with higher precipitation was found. Influence of genetic control, transcription factors on seed embryo formation and reserve nutrients in different climatic conditions is discussed. **Conclusions.** Rice seed formation conditions during higher precipitation had a negative impact on seed longevity even under optimal medium-term storage conditions. Additional research is needed to prove the change in transcriptional regulation of certain synthesis of necessary for seed formation and development under these conditions substances.

Keywords: gene pool, transcription factor, rice, seeds.