

ГЕНЕТИЧНА МОДИФІКАЦІЯ РОСЛИН ДЛЯ ЗМЕНШЕННЯ ВИКОРИСТАННЯ ФОСФАТІВ: МОЖЛИВОСТІ ТА ВИКЛИКИ

Осипенко О.А.¹, Маринченко Л.В.¹, Банникова М.О.², Нітовська І.О.²

¹КПІ ім. Ігоря Сікорського, osypenko.olena@iik.kpi.ua

²Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України



Abstract. *This article discusses biotech solutions to overcome phosphorus deficiency in soil, a key challenge in agriculture. Strategies involve boosting phosphorus uptake in plants through genetic tweaks and reclaiming phosphorus from waste. Plants modified to use phosphites offer a promising way to cut reliance on conventional fertilizers, ensuring better yields, quality, and eco-sustainability.*

Keywords: *phosphorus limitation, genetic modification, transgenic plants, phosphites, environmental sustainability*

Вступ. Обмеження поживних речовин у ґрунті є ключовим фактором, що впливає на ріст, розвиток та якість рослин. Особливо важливим для них є фосфор, який виконує структурну функцію (в синтезі таких важливих сполук як дезоксирибонуклеїнова кислота (ДНК), рибонуклеїнова кислота (РНК), аденозинтрифосфат (АТФ), фосфоліпіди, вуглеводи); енергетичну функцію (у складі аденозинтрифосфату та аденозиндифосфату використовується для зберігання та передачі енергії в клітинах рослин); поглинання речовин (азоту, калію та кальцію, за нестачі яких спостерігається зменшення та потовщення стебел) [1].

Низька доступність фосфору в ґрунті є загальною проблемою у рослинництві, тому в господарстві використовують фосфорні добрива. Фосфатна руда використовується для виробництва фосфорних добрив, але кількість покладів вичерпується [2, 3]. Лише частка фосфору (20–30 %), введеного у ґрунт, використовується рослинами протягом першого року після внесення. Це призводить до забруднення водних ресурсів (через явище евтрофікації (надмірне збагачення поживними речовинами, що є тригером до зміни екосистеми) та цвітіння токсичних водоростей) [4, 5]. Методи біотехнології можуть допомогти у вирішенні проблеми з нестачею фосфору та підвищити врожайність рослин.

Метою роботи є огляд досліджень використання генетичної модифікації рослин для зменшення використання фосфатів, аналіз впливу дефіциту фосфору на рослини, механізми його засвоєння.

Матеріали та методи. Аналіз наукових літературних джерел щодо методів зменшення використання фосфатів для підвищення врожайності рослин, зокрема шляхом генетичної модифікації.

Результати та обговорення. Розв'язання проблеми використання фосфорних добрив передбачає ряд підходів.

Одним з потенційних шляхів її вирішення є регулювання діяльності прорихів у рослин. За нестачі фосфору може спостерігатися зменшення щільності та розміру прорихів, що може призвести до обмеження поглинання CO₂ та зниження швидкості фотосинтезу [6]. Крім того, недостатня кількість

фосфору може призвести до збільшення концентрації абсцизової кислоти (АБК), яка сприяє закриттю продихів та збільшенню втрат води через транспірацію [7]. Ураховуючи тісний зв'язок між фосфором, продихами та абіотичними стресами, важливо дослідити механізми, що регулюють взаємодію між ними, з метою впливу на цю систему через генетичні фактори [1].

Також є можливим підвищення показника ефективності поглинання фосфору рослинами, відомого як PAE (Phosphorus Acquisition Efficiency) або за допомогою підвищення використання фосфору – показника PUE (Phosphorus Utilization Efficiency). Це передбачає такі генетичні зміни, що ведуть до збільшення розміру кореневих волосків, зміни архітектури кореня, покращення толерантності до Al^{3+} , надекспресії цитоплазматичних транспортерів фосфорних іонів, надекспресії білків PSTOL1 та AVP1, які відповідають за обмін фосфору в рослинах та його транспорт у клітині. Такі генетичні модифікації сприятимуть збільшенню врожайності культур, вирощених на ґрунтах з недостатньою кількістю фосфору.

Однак, ці методи не є панацеєю, оскільки частина фосфору все одно не засвоюється рослинами і потрапляє у водні екосистеми, а фосфорна руда використовується для виробництва добрив [8, 9, 10].

Інший підхід – відновлення фосфору зі стічних вод і біовідходів. Це важливо в контексті виснаження невідновлюваних ресурсів та геополітичних проблем. Міські стічні води виступають одним із таких потенційних джерел. З них можна відновити фосфор шляхом застосування біологічних (видалення біологічного надлишку фосфору) або хімічних (осадження) методів. Осад з міських очисних споруд може бути важливим ресурсом для відновлення фосфорних сполук.

Іншим джерелом фосфору для відновлення є відходи, що містять кістки. У цих відходах фосфор представлений у формі гідроксиапатиту, що має приблизно до 10% сухої речовини фосфору. Відходи біологічного походження, такі як залишки рослинництва та тваринництва, також містять фітинову кислоту (інозитол поліфосфат).

Однак існують виклики, такі як коливання концентрацій сполук фосфору у стічних водах та потреба у додаткових дослідженнях та інженерних розробках [11]. Тому одним із перспективних рішень є зміна джерела фосфору для рослин у складі мінеральних добрив.

Перспективний, на наш погляд, спосіб – створення сортів рослин, які будуть використовувати фосфіти. Фосфіт (PO_3^{3-}) подібний до фосфату (PO_4^{2-}), за винятком відсутності одного атома кисню. Фосфіти можуть мати гербіцидну, фунгіцидну та антибіотичну дію за концентрації від 24 кг/га. Їх можна використовувати для пригнічення росту небажаних культур рослин, грибів та бактерій на сільськогосподарських угіддях та у біореакторах. Фосфіти можуть бути використані як гербіциди ґрунтової дії для запобігання появі сходів бур'янів. Вони також можуть бути введені у воду через фертигацію (внесення добрив з поливною водою). Фосфіти можна використовувати як страховий гербіцид для обробки листової поверхні молодих рослин або як гербіцид для

полів із сортами рослин, які мають ген *ptxD*, відповідальний за синтез фосфітоксидоредуктази – ензиму, який сприяє перетворенню фосфітів на фосфати [12].

Кілька досліджень показали, що фосфіти можуть покращити врожайність рослин, їх якість та стійкість до абіотичного стресу [13, 14, 15], проте необхідні додаткові дослідження щодо впливу залишків фосфітів на ґрунтову мікрофлору та якість води.

Рослини використовують той самий транспортер для проникнення фосфітів у клітини, але не метаболізують їх, оскільки задіяні цих процесах ферменти вимагають чотирьох атомів кисню для взаємодії. Тому рослини мають перетворювати фосфіти на фосфати для метаболічного використання.

Один із методів, який може забезпечити рослини можливістю споживати фосфіти, полягає у використанні різних організмів та генів, що кодують фосфітдегідрогеназу. Зокрема, донором таких генів можуть бути організми *Pseudomonas stutzeri* WM88, *Alcaligenes faecalis* WM2072, *Xanthobacter flavus*, [6, 7]. Фосфітдегідрогеназа конвертує фосфіт у фосфат за участю кофактора NAD^+ (акцептор гідрогену) та регенерує кофактор NADH [11]. Ген *ptxD* *Pseudomonas stutzeri* WM88 має найбільше переваг, адже він є маркером негативної селекції, що полегшує відбір трансгенних рослин з вбудованим геном та має низьку реакційну здатність, що підвищить ефективність споживання фосфітів [16, 17].

Висновки. На основі проведеного літературного огляду було відзначено кілька викликів, пов'язаних із застосуванням різних методів збільшення доступності фосфору для рослин. По-перше, необхідно вирішити проблему недостатньої ефективності використання фосфору рослинами, навіть у разі застосування методів, спрямованих на підвищення їх поглинання. Частина фосфору все ще залишиться не засвоєною та може потрапити у водні екосистеми, що може призвести до забруднення водних ресурсів та евтрофікації.

По-друге, відновлення фосфору зі стічних вод та біологічних відходів стикається з викликами, такими як нестійкість концентрацій фосфору та технічні складнощі в процесі кристалізації та осадження. Ці фактори можуть ускладнити практичне широкомасштабне застосування цього методу та потребують подальших досліджень.

Підхід у створенні рослин, що використовують фосфіти, може мати потенціал у боротьбі з бур'янами та хворобами, але необхідно докладніше вивчити вплив залишків фосфітів на ґрунтову мікрофлору та якість води.

Цей огляд відзначає важливість фосфору у фізіологічних процесах рослин, який відіграє ключову роль у регулюванні реакцій на абіотичний стрес. Фосфор контролює такі процеси, як архітектура кореневої системи, фотосинтез та регуляція водно-газового обміну, що підкреслює його важливість у забезпеченні стійкості рослин до негативних умов. Особливо важливим є розуміння ролі прорихів у взаємодії між фосфором та стресом, оскільки вони впливають на адаптацію рослин до навколишніх умов.

Запровадження технологій, які базуються на фосфітах, може відкрити нові перспективи для сталого розвитку сільського господарства, сприяючи

збільшенню продуктивності та зменшенню впливу агрохімікатів на навколишнє середовище. Серед розглянутих організмів ген *ptxD Pseudomonas stutzeri* WM88 виявився найкращим вибором для проведення трансформації.

Список використаної літератури:

1. Khan F. et al. Phosphorus plays key roles in regulating plants' physiological responses to abiotic stresses // *Plants*. 2023. Vol. 12, № 15. P. 2861. DOI: 10.3390/plants12152861
2. Samreen S, Kausar S. Phosphorus – Recovery and Recycling. London: IntechOpen; 2018. Chapter 6, Phosphorus Fertilizer: The Original and Commercial Sources; p. 81-94. DOI:10.5772/intechopen.82240
3. Cordell D, Drangert JO, White S. The story of phosphorus: Global food security and food for thought. *Global Environmental Change*. 2009;19(2): 292-305. DOI:10.1016/j.gloenvcha.2008.10.009.
4. Approaching peak phosphorus. *Nat Plants*. 2022 Sep;8(9): 979. DOI: 10.1038/s41477-022-01247-2.
5. Gold A.J., Sims J.T. EUTROPHICATION // *Encyclopedia of Soils in the Environment*. Elsevier, 2005. P. 486. DOI:10.1016/B0-12-348530-4/00093-X
6. Jacob J., Lawlor D.W. Stomatal and Mesophyll Limitations of Photosynthesis in Phosphate Deficient Sunflower, Maize and Wheat Plants // *Journal of Experimental Botany*. 1991. Vol. 42, № 8. P. 1003–1011. DOI: 10.1093/jxb/42.8.1003
7. Zhang Y. et al. Abscisic acid facilitates phosphate acquisition through the transcription factor ABA INSENSITIVE5 in Arabidopsis // *The Plant Journal*. 2022. Vol. 111, № 1. P. 269–281. DOI: 10.1111/tbj.15791
8. Achary VMM, Ram B, Manna M, Datta D, Bhatt A, Reddy MK, et al. Phosphite: a novel P fertilizer for weed management and pathogen control. *Plant Biotechnol J*. 2017 Dec;15(12): 1493-508. DOI: 10.1111/pbi.12803.
9. Han Y., White P.J., Cheng L. Mechanisms for improving phosphorus utilization efficiency in plants // *Annals of Botany*. 2021. Vol. 129, № 3. P. 247–258. DOI: 10.1093/aob/mcab145
10. Pasapula V. et al. Expression of an *Arabidopsis* vacuolar H⁺-pyrophosphatase gene (AVP1) in cotton improves drought- and salt tolerance and increases fibre yield in the field conditions // *Plant biotechnology journal*. 2011. Vol. 9, № 1. P. 88–99. DOI: 10.1111/j.1467-7652.2010.00535.x
11. Witek-Krowiak A, Gorazda K, Szopa D, Trzaska K, et al. Phosphorus recovery from wastewater and bio-based waste: an overview. *Bioengineered*. 2022 Jun 5;13(5): 13474-506. DOI: 10.1080/21655979.2022.2077894.
12. Stevens D.R., Hammes-Schiffer S. Examining the Mechanism of Phosphite Dehydrogenase with Quantum Mechanical/Molecular Mechanical Free Energy Simulations // *Biochemistry*. 2020. Vol. 59, № 8. P. 943–954. DOI: 10.1021/acs.biochem.9b01089
13. Thao H.T.B., Yamakawa T. Phosphite (phosphorous acid): Fungicide, fertilizer or bio-stimulator? // *Soil Science and Plant Nutrition*. 2009. Vol. 55, № 2. P. 228–234. DOI: 10.1111/j.1747-0765.2009.00365.x
14. Bertsch, F., Ramírez, F. and Henríquez, C. Evaluación del fosfito como fuente fertilizante de fósforo vía radical y foliar. *Agron. Costarricense*, 2009, 33, 249–265
15. Olivieri, F.P., Feldman, M.L., Machinandiarena, M.F., et al, Phosphite applications induce molecular modifications in potato tuber periderm and cortex that enhance resistance to pathogens. *Crop Prot.*, 2012. 32, 1–6. DOI: 10.1016/j.cropro.2011.08.025
16. Lovatt, C.J. and Mikkelsen, R.L. Phosphite fertilizers: what are they? Can you use them? What can they do? *Better Crops*, 2006, 90, 11–13.
17. White A.K., Metcalf W.W. Microbial Metabolism of Reduced Phosphorus Compounds // *Annual Review of Microbiology*. 2007. Vol. 61, № 1. P. 379–400.