

АНТИОКСИДАНТНА АКТИВНІСТЬ ПЕТУНІЙ ІЗ ГЕНОМ ГЕТЕРОЛОГІЧНОЇ РИБОНУКЛЕАЗИ *ZRNase II*, ІНФІКОВАНИХ ВІРУСОМ ТЮТЮНОВОЇ МОЗАЇКИ

А.О. Потрохов*, Д.І. Сосновська, О.О. Овчаренко

Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України, Київ, Україна

*Corresponding author: AlexGSMster@gmail.com

Received 4 April 2022; Accepted 27 May 2022

Проблематика. Постійні зміни умов навколишнього середовища викликають розвиток стрес-реакцій у рослинах. За умов помірної інтенсивності та тимчасової дії стресового чинника відбуваються посилення захисних систем, мобілізація енергетичних ресурсів. Однак якщо стресове навантаження має довготривалу дію, в клітинах розпочинаються процеси перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), пригнічення енергопродукції та зниження синтезу білка з подальшою його деструкцією. В умовах надмірного стресового навантаження відбувається балансування між антиоксидантною активністю (АОА) та ПОЛ, що є необхідним для підтримки нормальної життєдіяльності клітини. Проміжні продукти окиснення можуть слугувати індукторами та медіаторами стресового стану. Фітовірусна інфекція може призводити до патологічних змін в організмі рослини. Розвиток інфекційного процесу в організмі ураженої рослини пов'язаний зі стресовими реакціями та порушенням її нормальної життєздатності.

Мета. Оцінити ступінь розвитку стрес-реакцій, викликаних біотичними стресовими чинниками, у контрольних і трансгенних (з геном *ZRNase II*) рослин петунії.

Методика реалізації. Вірус тютюнової мозаїки (ВТМ) використовувався для інфікування рослин петунії. Ступінь розвитку стрес-реакцій у трансгенних рослин петунії з геном *ZRNase II* до та після інфікування ВТМ досліджували за показниками ПОЛ і АОА. В роботі використовували трансгенні рослини, отримані на основі двох генетично відмінних ліній петунії: М1 та Р5. Для оцінки розвитку ПОЛ визначали накопичення початкового та кінцевого продуктів: дієнових кон'югатів і малонового діальдегіду.

Результати. Після трансформації рослин спостерігали зміни вмісту продуктів ПОЛ у тканинах листків. Трансгенні рослини мали на 10–15 % вищий вміст продуктів ПОЛ, що може свідчити про те, що трансформація сама по собі, в певних випадках, здатна призводити до розвитку стресових реакцій у рослин. Інфікування ВТМ сприяло активізації процесів, пов'язаних із захистом рослин від дії негативних факторів. Дослідження загальної АОА показали, що деякі трансгенні лінії рослини після інфікування мали істотно вищий рівень активності (18–30 %) порівняно з контролем, що може бути свідченням їх підвищеної життєздатності в стресових умовах.

Висновки. Позиційний ефект вбудовування Т-ДНК при генетичній трансформації може виступати стресовим фактором для рослини. Трансгенні лінії відрізнялись за показниками ПОЛ та АОА від рослин дикої типу та між собою. Після інфікування ВТМ у рослинах спостерігали зниження АОА в 4 рази. Ефективна експресія гена *ZRNase II* сприяє зменшенню вірусного навантаження в певних лініях. Лінії М1.2 та Р5.3 становлять найбільший інтерес для подальших вірусологічних досліджень, оскільки їх АОА активність була на 18–30 % вищою, ніж у контрольних рослин, що може вказувати на резистентність до вірусного ураження.

Ключові слова: трансгенні рослини; генетичні трансформації; петунія; вірус тютюнової мозаїки; стрес-реакції; перекисне окиснення ліпідів; антиоксидантна активність.

Вступ

Рослини в процесі свого росту та розвитку неодмінно стикаються зі стресовими чинниками різного походження. Для мінімізації наслідків негативного впливу стресу спрацьовують механізми захисту, які можуть бути забезпечені активацією генетичного апарату та зміною метаболізму клітин [1, 2]. Зміни умов навколишнього середовища викликають розвиток стрес-

реакцій у живих системах [3, 4]. За помірної інтенсивності та тимчасової дії стресового чинника відбуваються посилення захисних систем та мобілізація енергетичних ресурсів, однак за більш тривалого стресового впливу в клітинах розпочинаються процеси перекисного окиснення, пригнічення енергопродукції та зниження синтезу білка з подальшою його деструкцією [5].

Одним із механізмів захисту рослин від дії стресових чинників є активація та посилення

перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), яка відбувається переважно під дією вільних радикалів. При нормальному функціонуванні організму без надмірних впливів стресових факторів активність ПОЛ незначна, однак вона змінюється за надмірних і довготривалих навантажень. У таких умовах відбувається балансування між антиоксидантною активністю (АОА) та ПОЛ, що є необхідним для підтримки нормальної життєдіяльності. Проміжні продукти окиснення можуть слугувати індукторами та медіаторами стресового стану [6]. На розвиток стрес-реакції рослин впливають різні чинники як абіотичного, так і біотичного походження [7–9].

Фітовірусна інфекція може призводити до патологічних змін в організмі рослини. Розвиток інфекційного процесу в організмі ураженої рослини пов'язаний зі стресовими реакціями та порушенням їх нормальної життєздатності [10]. Відомо, що при патологічному стані організму в тканинах накопичуються продукти перекисного окиснення ліпідів, що супроводжується порушенням функцій цілої низки ферментативних систем [11]. Для повноцінного уявлення про проходження ПОЛ у тканинах необхідно визначати вміст дієнових кон'югатів (ДК) як початкового продукту перекисного окиснення та малонового діальдегіду (МДА) як кінцевого продукту, а також показник протилежного процесу – загальної АОА у тканинах.

У цій роботі ми використали модельну систему вірус–рослина. За модельну рослину взято *Petunia hybrida*, яка була трансформована геном екстраклітинної рибонуклеази цинії (*ZRNase II*). Цей ген кодує фермент ендорибонулеазу, здатний розщеплювати РНК у міжклітинному просторі, що потенційно може бути використано для створення вірусостійких рослин. Вірус тютюнової мозаїки (ВТМ) було вибрано як класичний модельний вірус.

Мета нашої роботи – порівняти ступінь розвитку стрес-реакцій, викликаних біотичними стресовими чинниками, в контрольних і трансгенних (із геном *ZRNase II*) рослин петунії.

Матеріали і методи

У роботі використовували трансгенні рослини, отримані на основі двох генетично відмінних ліній петунії: M1 та P5.

Для отримання рослин із гетерологічним геном *ZRNase II* з цинії *Zinnia elegance* було використано метод *Agrobacterium* опосередкованої генетичної трансформації листкових дисків

(використовували *A. Tumefaciens*, штам AGL0, з вектором pbi-RNS). Для акліматизації рослин з умов *in vitro* до умов теплиці рослини висаджували в нейтральний торф'яний субстрат TS1 (Klasman, Латвія) за температури +24 °C та 16-годинного освітлення.

Вірусомісний матеріал було надано кафедрою вірусології Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Отриманим інокулятом проводили ураження листкових пластинок. Наявність вірусу в рослині визначали візуально за зміною морфології листків.

Для отримання екстрактів дослідний матеріал розтирали в 0,1 М фосфатному буфері (рН 7,4), осад ресуспендували в тому ж буфері. Для визначення дієнових кон'югатів (ДК) до отриманого розчину додавали суміш гептану з ізопропіловим спиртом 1:1. Отриману суміш центрифугували 10 хв при 4000 г. Після центрифугування додавали дистильовану воду у співвідношенні 1/10 об'єму, розчин перемішували та відбирали гептанову фазу в кількості 1 мл. До неї додавали 96 %-вий етиловий спирт (5 мл). Оптичну густину вимірювали на спектрофотометрі СФ-26 при 233 нм у кварцових кюветах із ходом променя 10 мм [10].

Вміст малонового діальдегіду (МДА) визначали в екстрактах, отриманих за методикою, описаною вище. Гомогенат листя осаджували 5 %-вою трихлороцтовою кислотою та центрифугували 10 хв при 4000 г. Надосадову рідину переносили в пробірки і додавали 0,8 %-ву тіобарбітурову кислоту та нагрівали на водяній бані 10 хв за температури 100 °C. Оптичну густину розчину вимірювали на спектрофотометрі СФ-26 при 532 нм у кварцевих кюветах із ходом променя 10 мм [11].

Для визначення загальної антиоксидантної активності до отриманих дослідних зразків (методику отримання див. вище) додавали 0,2 мл 10 мМ розчину 2-дезоксирибози, 0,2 мл 0,1 мМ розчину комплексу Fe²⁺/EDTA та 0,2 мл 30 % H₂O₂. Отриманий розчин доводили фосфатним буфером до об'єму 2 мл. Суміш інкубували 4 год за +37 °C. Після інкубації додавали 1 мл 2,8 %-вого розчину трихлороцтової кислоти і 1 мл 1 %-вого розчину тіобарбітурової кислоти в 50 мМ розчину NaOH. Суміш нагрівали протягом 10 хв за 100 °C. Виміри оптичної густини проводили за довжини хвилі 532 нм на спектрофотометрі СФ-26 [12].

Для обробки статистичних даних використовували пакет програм MS Excel 2016.

Результати

У ході проведених раніше досліджень нами було отримано рослини *Petunia hybrida*, що несуть цільовий ген екстраклітинної рибонуклеази цинії (*ZRNase II*) та селективний ген неоміцинофосфотрансферази (*nptII*), який обумовлює стійкість до канаміцину. Аналіз на основі полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) підтвердив наявність продуктів ампліфікації при використанні праймерів до *ZRNase II* та *nptII* генів (дані не представлено), що вказує на наявність обох генів. При ампліфікації з праймерами до *VirC* гена не отримали продуктів ампліфікації. Це свідчить про те, що зразки не були контаміновані агробактерією, наявність якої могла б привести до хибно позитивної ампліфікації генів до *ZRNase II* та *nptII* з плазмиди, а не з рослинного геному.

З метою оцінки стресостійкості дослідні рослини інфікували ВТМ. Через 1 місяць після інокуляції спостерігали візуальні ознаки прояву вірусної інфекції: деформацію листової пластинки, плямистість і хлоротичність. Наявність вірусу додатково підтверджена методом непрямого імуоферментного аналізу (дані не представлено). Для оцінки розвитку стрес-реакцій визначали показники накопичення продуктів ПОЛ і загальну АОА. Одночасно досліджували ПОЛ і АОА в рослинах дикого типу та трансгенних, які не були інфіковані. Отримані дані порівнювали між собою.

При порівнянні показників накопичення ДК (початкового продукту ПОЛ) у рослин ди-

кого типу та різних лініях трансгенних рослин виявили накопичення 0,25–0,30 мкгМ/мг, що вказує на відсутність достовірної різниці між рослинами дикого типу та трансгенними лініями P5.1, P5.3 та M1.2. У трансгенних лініях M1.1 та P5.2 рівень накопичення ДК був значно вищим і становив 0,4–0,45 мкгМ/мг (рис. 1).

У трансгенних лініях рослин петунії та рослинах дикого типу після інфікування ВТМ відбувалося підвищення накопичення продуктів ПОЛ порівняно з незараженими рослинами. У трансгенних ліній P5.1 і P5.2 вміст ДК підвищувався порівняно з контролем у 2,2 разу, в той же час відмінності у рівні накопичення ДК між зараженими трансгенними лініями гібриду M1 демонстрували меншу відмінність порівняно із зараженими рослинами дикого типу.

При дослідженні в рослинах накопичення кінцевого продукту ПОЛ МДА було показано (рис. 2), що в трансформованих незаражених рослинах його вміст був вищим порівняно з незараженими рослинами дикого типу.

Дослідження рівня АОА в листках петунії здійснювали через визначення залишкового малону, який утворювався в процесі реакції з 2-дезоксирибозою (рис. 3). За високої АОА відбувається деградація малону, тому високі рівні залишкового малону вказують на низьку АОА. Було показано, що до інфікування контрольні рослини мали відносно високу АОА, яка становила 9,5 мкМоль/г. У листках трансгенних рослин P5.1 та M1.1 спостерігали меншу АОА, близько 23,4–25,4 мкМоль/г. Інші трансгенні лінії мали активність на рівні 12,0–13,3 мкМоль/г.

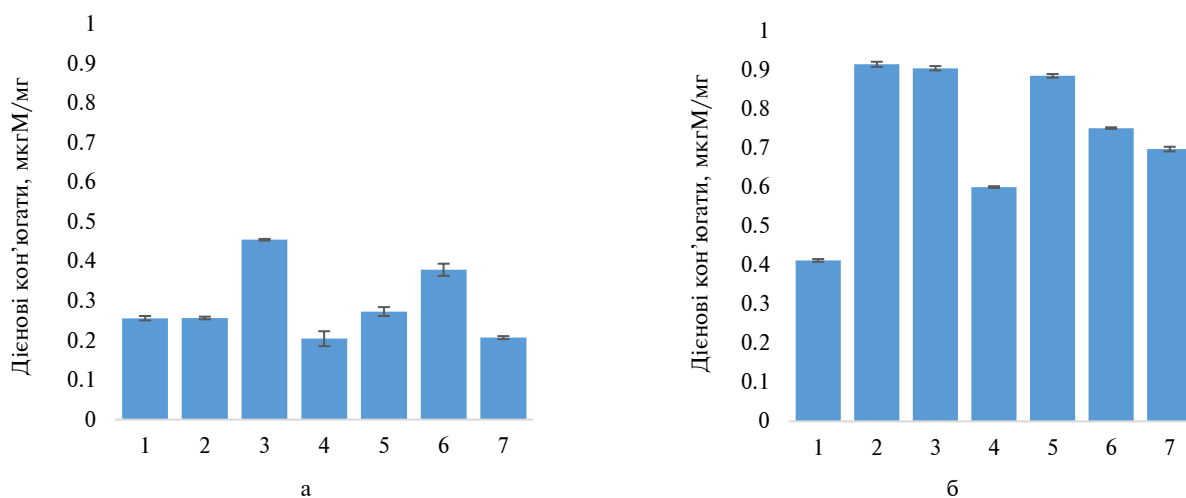


Рисунок 1: Вміст дієнових кон'югатів у неінфікованих (а) та інфікованих (б) рослинах петунії: 1, 5 – нетрансформовані контрольні рослини ліній P5 та M1 відповідно; 2–4 – незалежні трансгенні клони, отримані на основі лінії P5; 6, 7 – незалежні трансгенні клони, отримані на основі лінії M1

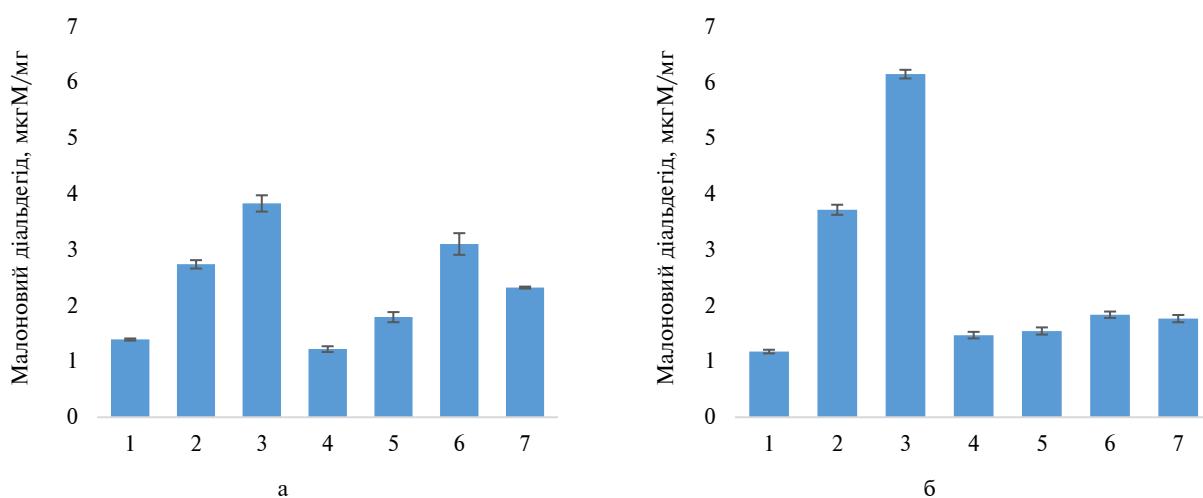


Рисунок 2: Вміст малонового діальдегіду в неінфікованих (а) та інфікованих (б) рослинах петунії: 1, 5 – нетрансформовані контрольні рослини ліній P5 та M1 відповідно; 2–4 – незалежні трансгенні клони, отримані на основі лінії P5; 6, 7 – незалежні трансгенні клони, отримані на основі лінії M1

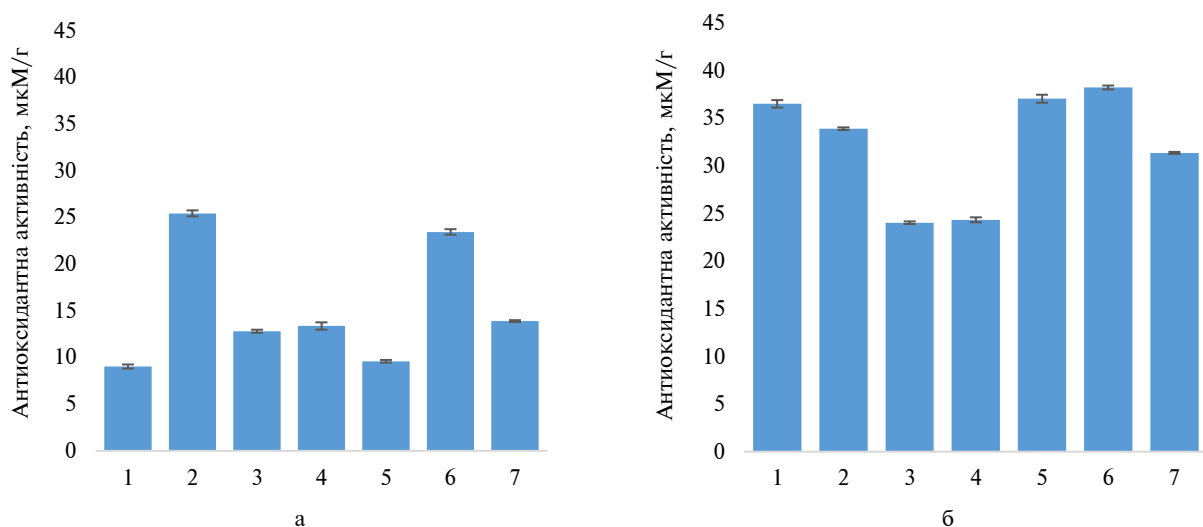


Рисунок 3: Антиоксидантна активність у неінфікованих (а) та інфікованих (б) рослинах петунії: 1, 5 – нетрансформовані контрольні рослини ліній P5 та M1 відповідно; 2–4 – незалежні трансгенні клони, отримані на основі лінії P5; 6, 7 – незалежні трансгенні клони, отримані на основі лінії M1

Після інфікування ВТМ у рослинах спостерігали зниження АОА до 4 разів. У трансгенних інфікованих рослинах гібриду P5 усі рослини мали вищу АОА порівняно з контролем. Різниця між лініями P5.2, P5.3 та рослинами дикого типу становила 30 %. У трансгенних лініях M1.1 вона наближалась до контрольних значень, а у лінії M1.2 АОА була більшою на 18 %, ніж у контролі.

Отриманні нами трансгенні рослини відрізнялись від рослин дикого типу вищим рівнем АОА, що є свідченням їх підвищеної здатності до адаптації у відповідь на розвиток стресу, викликаний біотичним фактором. При інфікуванні

частина трансгенних ліній перевищували рослини дикого типу за адаптаційними характеристиками, що може бути пов'язано з ефективною експресією гена *ZRNase II*, яка сприяє зменшенню вірусного навантаження.

Обговорення

Речовини, що проявляють АОА, відіграють значну роль у послабленні токсичної дії вільних радикалів, які своєю чергою спричиняють різного роду патологічні зміни в організмі. Підвищення рівня АОА рослин сприяє зростанню їх толерантності до дії різних стресових факто-

рів [3, 14, 15]. На розвиток ПОЛ і АОА може впливати ціла низка негативних факторів як біотичного, так і абіотичного характеру, зокрема солоність, надмірна вологість, важкі метали в ґрунті, посуха, бактеріальні та вірусні хвороби [16, 17]. Достеменно встановлено, що значенні фактори пригнічують ріст і розвиток рослин, призводять до зниження врожайності та загибелі організму [9]. Рослинні організми при впливі цих чинників активують свої захисні системи для протидії негативним впливам. Основними маркерами розвитку стресу є накопичення МДА і ДК [14]. Накопичення цих продуктів в організмі рослин є показником розвитку стресових явищ. Поряд із цим рослини можуть адаптуватися до дії негативних чинників через активацію механізмів, які пов'язані зі зниженням ПОЛ, а саме для перешкодження окислативним пошкодженням активується цикл ферментативних захисних реакцій, спрямованих на протидію стресу [13].

Відомо, що в процесі розвитку стрес-реакції відбуваються зміни в накопиченні продуктів ПОЛ [14, 15]. У наших дослідженнях було показано, що у трансформованих незаражених рослинах, за винятком двох ліній, активність ПОЛ була на рівні контрольних незаражених рослин дикого типу. В інфікованих контрольних рослинах дикого типу фітовірусна інфекція спричинювала посилення процесів ПОЛ, активацію метаболічних процесів і загалом розвиток стрес-реакцій. Можна припустити, що рівень адаптивної активності у контрольних рослин за наявності фітовірусної інфекції був нижчим, ніж у трансформованих рослинах. Отримані дані також свідчать, що не лише фітовірусна інфекція, а й сама трансформація може розглядатися як біотичний стресовий чинник.

Відомо [15, 16], що висока АОА є ознакою підвищеної стійкості до стресу, а отже, як наслідок, і більшої життєздатністю. Отримані на-

ми трансгенні рослини відрізнялись від рослин дикого типу вищим рівнем АОА, що є свідченням їх підвищеної здатності до адаптації у відповідь на розвиток стресу, викликаний біотичним фактором.

Таким чином, наші дослідження вказують на те, що при трансформації рослин важливим фактором, який впливає на адаптацію рослин до стресових умов, є позиційний ефект при вбудовуванні Т-ДНК. Кожна отримана рослина трансгенна лінія є унікальною, оскільки вбудовування генів при агробактеріальній трансформації відбувається вибірково і не прив'язане до певної ділянки, різні лінії можуть реагувати на один і той самий стресовий фактор по-різному.

Висновки

Трансгенні лінії відрізняються за показниками ПОЛ та АОА від рослин дикого типу та між собою, що може бути наслідком вбудовування вставки чужорідної ДНК у геном. Позиційний ефект при вбудовуванні Т-ДНК при генетичній трансформації може виступати стресовим фактором для рослини. Лінії М1.2 та Р5.3 становлять найбільший інтерес для подальших вірусологічних досліджень, оскільки їх АОА активність була на 18%-30% вищою ніж у контрольних рослин, що може вказувати на підвищену резистентність до вірусного ураження. Адаптаційні характеристики трансгенних рослин можуть бути пов'язані з ефективною експресією гена *ZRNase II*, яка сприяє зменшенню вірусного навантаження в певних лініях.

Розкриття інтересів

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів для розкриття.

References

- [1] Atkinson NJ, Urwin PE. The interaction of plant biotic and abiotic stresses: from genes to the field. *J Exp Bot.* 2012 Jun;63(10):3523-43. DOI: 10.1093/jxb/ers100
- [2] Qamer Z, Chaudhary MT, Du X, Hinze L, Azhar MT. Review of oxidative stress and antioxidative defense mechanisms in *Gossypium hirsutum* L. in response to extreme abiotic conditions. *J Cotton Res.* 2021;4(1):9. DOI: 10.1186/s42397-021-00086-4
- [3] Kowalczewski PE, Radzikowska D, Ivanišová E, Szwengel A, Kačániová M, Sawinska Z. Influence of abiotic stress factors on the antioxidant properties and polyphenols profile composition of green barley (*Hordeum vulgare* L.). *Int J Mol Sci.* 2020 Jan 8;21(2):397. DOI: 10.3390/ijms21020397
- [4] Nicky J. The interaction of plant biotic and abiotic stresses: from genes to the field. *J Exp Bot.* 2012 Jun;63(10):3523-43. DOI: 10.1093/jxb/ers100

- [5] He M, He CQ, Ding NZ. Abiotic stresses: general defenses of land plants and chances for engineering multistress tolerance. *Front Plant Sci.* 2018 Dec 7;9:1771. DOI: 10.3389/fpls.2018.01771
- [6] Vahdati K, Leslie C, editors. Abiotic stress – plant responses and applications in agriculture. InTechOpen; 2013. 410 p. DOI: 10.5772/45842
- [7] Kusvuran S, Kiran S, Ellialtioglu SS. Antioxidant enzyme activities and abiotic stress tolerance relationship in vegetable crops. In: Shanker AK, Shanker C, editors. Abiotic and biotic stress in plants. InTechOpen; 2016. DOI: 10.5772/62235
- [8] Dumanović J, Nepovimova E, Natić M, Kuča K, Jačević V. The significance of reactive oxygen species and antioxidant defense system in plants: a concise overview. *Front Plant Sci.* 2021 Jan 6;11:552969. DOI: 10.3389/fpls.2020.552969
- [9] Xie X, He Z, Chen N, Tang Z, Wang Q, Cai Y. The roles of environmental factors in regulation of oxidative stress in plant. *Biomed Res Int.* 2019 May 8;2019:9732325. DOI: 10.1155/2019/9732325
- [10] Lapikova VP, Gaivorovskaya LM, Averyanov AA. Possible participation of reactive oxygen species in double induction of anti-infectious plant reactions. *Physiol Plants* 2000;47(1):161-2.
- [11] Mittler R. Abiotic stress, the field environment and stress combination. *Trends Plant Sci.* 2006 Jan;11(1):15-9. DOI: 10.1016/j.tplants.2005.11.002
- [12] Sibgatullina GV, Khaertdinova LR, Gumerova EA, Akulov AN, Kostyukova YA, Nikonorova NA, et al. Methods for determining the redox status of cultivated plant cells. Kazan: Kazan Federal University; 2011. 61 p.
- [13] Anwar A, Kim JK. Transgenic breeding approaches for improving abiotic stress tolerance: recent progress and future perspectives. *Int J Mol Sci.* 2020 Apr;21(8):2695. DOI: 10.3390/ijms21082695
- [14] Waqas Muhammad Ahmed, Kaya Cengiz, Riaz Adeel, et al. Potential mechanisms of abiotic stress tolerance in crop plants induced by thiourea. *Front Plant Sci.* 2019 Oct 29;10:1336. DOI: 10.3389/fpls.2019.01336
- [15] Khaleghi A, Naderi R, Brunetti C, Maserti BE, Salami SA, Babalar M. Morphological, physiochemical and antioxidant responses of *Maclura pomifera* to drought stress. *Sci Rep.* 2019 Dec 17;9(1):19250. DOI: 10.1038/s41598-019-55889-y
- [16] Pandey P, Irulappan V, Bagavathiannan MV, Senthil-Kumar M. Impact of combined abiotic and biotic stresses on plant growth and avenues for crop improvement by exploiting physio-morphological traits. *Front Plant Sci.* 2017 Apr 18;8:537. DOI: 10.3389/fpls.2017.00537
- [17] Baillo EH, Kimotho RN, Zhang Z, Xu P. Transcription factors associated with abiotic and biotic stress tolerance and their potential for crops improvement. *Genes (Basel).* 2019 Sep 30;10(10):771. DOI: 10.3390/genes10100771

A.O. Potrohov, D.I. Sosnovskaya, O.O. Ovcharenko

Institute of Cell Biology and Genetic Engineering, NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF PETUNIAS WITH THE HETEROLOGOUS RIBONUCLEASE *ZRNase II* GENE INFECTED WITH TOBACCO MOSAIC VIRUS

Background. Constant changes in environmental conditions cause the development of stress reactions in plants. Under conditions of moderate intensity and temporary action of the stress factor, the strengthening of protective systems and the mobilization of energy resources take place. However, if the stress factor has a long-term effect, the cells begin the processes of lipid peroxidation (LPO), inhibition of energy production and reduction of protein synthesis with its subsequent destruction. Under conditions of excessive stress, there is a balance between antioxidant activity (AOA) and LPO, which is necessary to maintain normal cell function. Oxidation intermediates can serve as inducers and mediators of stress. Phytovirus infection can lead to pathological changes in the body of a plant. The progression of the infectious process in the body of the affected plant is associated with stress reactions and disruption of its normal viability.

Objective. We are aimed to assess the degree of progress of stress reactions caused by biotic stressors in control and transgenic (with *ZRNase II* gene) petunia plants.

Methods. Tobacco mosaic virus (TMV) was used to infect petunia plants. The degree of progress of stress reactions in transgenic petunia plants with the *ZRNase II* gene before and after infection with TMV was studied by POL and AOA indicators. Two genetically distinct lines of petunia (M1 and P5) were used to obtain transgenic plants. To assess the progress of LPO, the accumulation of initial and final products (diene conjugates and malonic dialdehyde) was determined.

Results. After the plants transformation, changes in the content of LPO products in leaf tissues were observed. Transgenic plants had a 10–15% higher content of LPO products, which may indicate that the transformation, in some cases, can lead to the progress of stress reactions in plants. Infection with TMV has contributed to the intensification of processes related to the protection of plants from the effects of negative factors. Studies of total AOA have shown that transgenic plants after infection had significantly higher levels (18–30%) of AOA compared with controls, which may be evidence of their increased viability under stress.

Conclusions. The positional effect of T-DNA incorporation in genetic transformation may be a stressor for the plant. Transgenic lines differ in terms of LPO and AOA from non-transgenic lines and from each other. After infection with TMV, a 4-fold decrease in AOA was observed in the plants. Effective expression of the *ZRNase II* gene helps to reduce viral load in certain lines. Lines M1.2 and P5.3 are of greatest interest for further virological studies, as their AOA activity was 18–30% higher than in control plants, which may indicate resistance to viral infection.

Keywords: transgenic plants; genetic transformation; petunia; tobacco mosaic virus; stress reactions; lipid peroxidation; antioxidant activity.