

DOI <https://doi.org/10.31359/2413.7642.2026.1.120>

УДК 575.224:633.88:004.9

**Лиманська С. В.**, канд. біол. наук, доцент,

E-mail: [svetlanalymanska@gmail.com](mailto:svetlanalymanska@gmail.com), ORCID: [0000-0001-7049-4884](https://orcid.org/0000-0001-7049-4884)

**Гудим О. В.**, канд. с.-г. наук, доцент,

E-mail: [lenagudym1990@gmail.com](mailto:lenagudym1990@gmail.com), ORCID: [0000-0002-0733-3006](https://orcid.org/0000-0002-0733-3006)

**Гопцій Т. І.**, д-р с.-г. наук, професор

E-mail: [tetiana.gopciy@gmail.com](mailto:tetiana.gopciy@gmail.com), ORCID: [0000-0003-0288-7592](https://orcid.org/0000-0003-0288-7592)

Державний біотехнологічний університет, Харків, Україна

## ІДЕНТИФІКАЦІЯ ГЕНІВ-КАНДИДАТІВ ПОСУХОСТІЙКОСТІ АМАРАНТУ МЕТОДАМИ БІОІНФОРМАТИКИ

**Анотація.** Сьогодні амарант є нішевою культурою, продукція якої може забезпечувати харчову, кормову, декоративну, а також лікарську галузі. З кожним роком клімат все сильніше змінюється в бік потепління, і як наслідок рослини потерпають від нестачі вологи у ґрунті. Для сільськогосподарських культур є нагальною проблемою створення форм, стійких до посухи. Цей напрям селекції є актуальним і для амаранту. **Мета.** Знайти нуклеотидні послідовності генів-кандидатів посухостійкості в амаранту, вивчити поліморфізм, розробити праймери до послідовностей, які були знайдені. **Методи.** Дослідження були проведені у 2023–2025 роках на кафедрі генетики, селекції та насінництва Державного біотехнологічного університету. Проводили біоінформаційний пошук генів-кандидатів, використовуючи послідовності гену *Dreb*. Порівняння послідовностей виконували за допомогою методу множинного вирівнювання, з використанням програми BioEdit 7.2.5, що являє собою редактор біологічного вирівнювання послідовностей. Після знаходження генів-кандидатів посухостійкості в амаранту, з використанням програми AmplifX 2.1.1, проведено розробку праймерів. Дана програма дає можливість одразу провести тестування праймерів методом ПЛР *in silico*. **Результати.** У ході дослідження було виявлено 53 послідовностей ДНК, що контролюють посухостійкість у сільськогосподарських культур. З них було ідентифіковано 13 послідовностей ДНК генів-кандидатів посухостійкості в амаранту. Знайдені послідовності сформуvalи п'ять гаплотипів, два з яких були ідентичними. У межах гаплотипу А виявлено 3 алелі, гаплотипів В і D – 2 алелі, гаплотипу С – один алельний варіант. Усі алелі у межах свого гаплотипу розрізнялися наявністю інделів різної довжини. До кожного гаплотипу було розроблено діагностичну пару праймерів, які можуть використовуватися в маркерній селекції на вивчення посухостійкості у амаранту. **Висновки.** У результаті проведеного біоінформаційного аналізу ідентифіковано 13 потенційних генів-кандидатів посухостійкості амаранту, встановлено їх гаплотипову структуру та алельний поліморфізм, зокрема наявність інделей різної довжини, що свідчить про генетичну різноманітність досліджених фрагментів ДНК. На основі отриманих даних розроблено діагностичні праймери для кожного виявленого гаплотипу, які можуть бути ефективно використані в маркер-асоційованій селекції для створення посухостійких сортів і гібридів амаранту.

**Ключові слова:** амарант, ген, посухостійкість, NCBI, гаплотип, послідовність нуклеотидів, праймери, ПЛР.

**O. Hudym**, PhD (agricultural sciences), associate professor  
E-mail: [svetlanalymanska@gmail.com](mailto:svetlanalymanska@gmail.com), ORCID: [0000-0001-7049-4884](https://orcid.org/0000-0001-7049-4884)

**T. Hoptsi**, doctor of agricultural sciences, professor  
E-mail: [lenagudym1990@gmail.com](mailto:lenagudym1990@gmail.com), ORCID: [0000-0002-0733-3006](https://orcid.org/0000-0002-0733-3006)

**S. Lymanska**, PhD (biological sciences), associate professor  
E-mail: [tetiana.gopciy@gmail.com](mailto:tetiana.gopciy@gmail.com), ORCID: [0000-0003-0288-7592](https://orcid.org/0000-0003-0288-7592)

State Biotechnological University, Kharkiv, Ukraine

### Identification of drought tolerance candidate genes in amaranth using bioinformatic approaches

**Formulation of the problem.** Today, amaranth is a niche crop whose products can be used in the food, feed, ornamental, and pharmaceutical industries. With ongoing climate change and the steady trend toward global warming, plants increasingly suffer from soil moisture deficiency. The development of drought-tolerant forms has therefore become an urgent task in agricultural crop breeding. This breeding direction is also highly relevant for amaranth. **Purpose.** The aim of this study was to identify nucleotide sequences of drought tolerance candidate genes in amaranth, analyze their polymorphism, and design primers for the identified sequences. **Methods.** The study was conducted in 2023–2025 at the Department of Genetics, Breeding and Seed Production of the State Biotechnological University. A bioinformatic search for candidate genes was performed using DREB gene sequences. Sequence comparisons were carried out using the multiple sequence alignment method with the BioEdit 7.2.5 software, which is a biological sequence alignment editor. After identifying candidate drought-resistance genes in amaranth, primers were designed using AmplifX 2.1.1 software. This program also allows in silico PCR testing of the designed primers. **Results.** A total of 53 DNA sequences controlling drought tolerance in agricultural crops were identified during the study. Among them, 13 DNA sequences were identified as potential drought tolerance candidate genes in amaranth. The detected sequences formed five haplotypes, two of which were identical. Within haplotype A, three alleles were identified; haplotypes B and D each contained two alleles; and haplotype C contained one allelic variant. All alleles within each haplotype differed by the presence of insertions/deletions (indels) of varying lengths. A diagnostic primer pair was developed for each haplotype, which can be applied in marker-assisted selection to study drought tolerance in amaranth. **Conclusions.** The bioinformatic analysis resulted in the identification of 13 potential drought tolerance candidate genes in amaranth, determination of their haplotypic structure, and characterization of allelic polymorphism, including indels of different lengths, indicating genetic diversity of the analyzed DNA fragments. Based on the obtained data, diagnostic primers were developed for each identified haplotype. These primers can be effectively used in marker-assisted breeding programs aimed at developing drought-tolerant amaranth varieties and hybrids.

**Keywords:** amaranth, gene, drought tolerance, NCBI, haplotype, nucleotide sequence, primers, PCR.

**Вступ.** Глобальні кліматичні зміни, що супроводжуються підвищенням температури повітря та зростанням частоти й інтенсивності посух, суттєво впливають на продуктивність сільськогосподарських культур. У зв'язку з цим зростає потреба у створенні сортів із підвищеною стійкістю до водного дефіциту. Амарант є перспективною культурою завдяки C4-типу фотосинтезу, високій

біологічній пластичності та цінним господарським ознакам, проте молекулярно-генетичні механізми його посухостійкості залишаються недостатньо вивченими [1].

Незважаючи на наявність досліджень щодо генів стрес-відповіді у модельних та зернових культур, інформація про відповідні гені-кандидати в амаранту є обмеженою. Відсутність систематизованих даних про їхню структуру, поліморфізм та можливі гаплотипові варіанти ускладнює застосування молекулярних маркерів у селекційному процесі [2]. У сучасних умовах саме біоінформаційні підходи дозволяють ефективно здійснювати пошук та ідентифікацію потенційних гені-кандидатів на основі порівняльного аналізу геномних послідовностей, що відкриває можливості для прискорення створення посухостійких сортів [1; 2].

**Аналіз останніх джерел та публікацій.** Упродовж останніх років молекулярні та геномні підходи до вивчення адаптації рослин до абіотичних стресів, зокрема до водного дефіциту, активно розвиваються в науковій спільноті. Дослідники все частіше звертають увагу на нетрадиційні культури із високою екологічною пластичністю, серед яких амарант (*Amaranthus* spp.) виділяється як потенційно перспективна культура для стійкого сільського господарства.

Так, у роботах Santana-Gómez та співавт. [3], було використано транскриптомний аналіз для виявлення відповідей *Amaranthus hypochondriacus* на посуховий стрес, виявлено численні транскрипційні фактори, зокрема гени родин NAC та AP2/EREBP, що суттєво змінюють експресію в умовах водного дефіциту. Подібний підхід застосували Naque і співавт. [4], аналізуючи транскриптом амаранту під комбінованим впливом посухи і високої температури, де було виділено кілька DREB-подібних генів як ключові елементи відповіді.

Пошук ортологічних генів у *Amaranthus* на основі даних з модельних видів здійснювали Hassan et al. [5], які ідентифікували великі групи генів DREB, MYB84 та WRKY як потенційні кандидати для подальшого функціонального аналізу. Ці гени вже відомі у зернових культурах як важливі регулятори відповіді на посуху.

Також у дослідженні Zheng et al. [6] доведено, що гени родини NHX, які беруть участь у підтримці осмотичного балансу, корелюють із толерантністю рослин до сольових і водних стресів у *Amaranthus cruentus*, що підтверджує еволюційну консервативність механізмів стрес-відповіді між видами.

Важливу роль у розробці біоінформаційних методів відіграли роботи Liu et al. [7], де представлено філогенетичний аналіз багатоатомних сімейств транскрипційних факторів, таких як NAC і WRKY, із застосуванням алгоритмів багаторазового вирівнювання та побудови дерев спорідненості. Це дозволяє не лише ідентифікувати

кандидати на посухостійкість, але й прогнозувати їхню функціональну роль на основі еволюційних зв'язків.

Незважаючи на значний прогрес у суміжних культурах, для *Amaranthus* залишається обмеженою кількість конкретних даних щодо генетичних детермінант адаптації до посухи. [8]. Саме тому біоінформаційні підходи, які інтегрують геномні, транскриптомні та публікації з модельних видів, є вирішальними для побудови першого масивного каталогу генів-кандидатів посухостійкості амаранту.

Тому, метою проведених досліджень було знайти і вивчити поліморфізм нуклеотидних послідовностей генів-кандидатів посухостійкості в амаранту, розробити праймери до знайдених послідовностей.

**Матеріали та методи досліджень.** Дослідження були проведені у 2023–2025 роках на базі кафедри генетики, селекції та насінництва Державного біотехнологічного університету. Пошук наукової літератури та послідовностей ДНК генів-кандидатів посухостійкості амаранту проводили за допомогою ресурсу National Center for Biotechnological Information (NCBI), зокрема бази біотехнологічних даних. Через те що в амаранту гени, які контролюють посухостійкість, ще не досліджувалися, то при проведенні біоінформаційного пошуку генів-кандидатів було використано послідовності гену *Dreb1* [9], який вже був описаний для інших культур як такий, що контролює посухостійкість у ряду сільськогосподарських культур, зокрема пшениці, ячменю, сої, арабідопсису тощо.

У таблиці 1 наведено характеристику нуклеотидних послідовностей гену *Dreb1* пшениці і жита, які були використані для пошуку синонімічних ділянок у геномі амаранту.

**Таблиця 1. Характеристика нуклеотидних послідовностей, які кодують гени посухостійкості у сільськогосподарських культур**

Номер послідовності у базі даних NCBI	Таксон	Довжина послідовності, п.н.	Тип послідовності
DQ195070.1	<i>Triticum aestivum</i>	1670	ДНК
GU108404.1	<i>Hordeum vulgare</i>	551	ДНК

Послідовності ДНК амаранту, знайдені за результатами біоінформаційного пошуку генів-кандидатів посухостійкості, наведено у таблицях 2. та 3.

**Таблиця 2. Характеристика нуклеотидних послідовностей генів кандидатів посухостійкості амаранту, знайдених за послідовністю гену Dreb1 у пшениці DQ195070.1**

Номер послідовності у базі даних NCBI	Вид амаранту	Довжина послідовності, п.н.	Гаплотип
XM_057667625.1	Amaranthus tricolor	1435	A
XM_057667624.1	Amaranthus tricolor	1530	A
XM_057667623.1	Amaranthus tricolor	1510	A
XM_057667291.1	Amaranthus tricolor	1615	B
XR_009039852.1	Amaranthus tricolor	1489	B
XM_057667290.1	Amaranthus tricolor	1619	B

**Таблиця 3. Характеристика нуклеотидних послідовностей генів кандидатів посухостійкості в амаранту, знайдених за послідовністю гену у ячменю GU108404.1**

Номер послідовності у базі даних NCBI	Вид амаранту	Довжина послідовності, п.н.	Гаплотип
XM_057667291.1	Amaranthus tricolor	1615	C
XR_009039852.1	Amaranthus tricolor	1489	C
XM_057667625.1	Amaranthus tricolor	1435	A
XM_057667624.1	Amaranthus tricolor	1530	A
XM_057667623.1	Amaranthus tricolor	1510	A
XM_057679690.1	Amaranthus tricolor	1662	D
XM_057679689.1	Amaranthus tricolor	1758	D

Порівняння послідовностей виконували за допомогою методу множинного вирівнювання [10], з використанням програми BioEdit 7.2.5 [11; 12], що являє собою редактор біологічного вирівнювання послідовностей. Множинне вирівнювання проводилося в три етапи: 1) усі знайдені послідовності порівнювали між собою з подальшим встановленням схожих груп послідовностей; 2) в кожній отриманій групі проводили вирівнювання; 3) проводили вирівнювання груп між собою.

BioEdit містить вбудований макрос ClastalW, який відповідає за проходження процесу вирівнювання. Процес вирівнювання проходить за алгоритмом Сміта– Уотермана [13]. Алгоритм полягає в порівнянні сегментів всіх можливих довжин послідовностей та оптимізації відсотка їх подібності.

Після того як було знайдено гени-кандидати посухостійкості в амаранту, з використанням програми AmplifX 2.1.1 [14] було проведено розробку праймерів. Дана програма дає можливість одразу провести тестування праймерів методом ПЛР in silico. Протокол для проведення

ПЛР у лабораторних умовах розробляли відповідно до загально прийнятих методик [15; 16]. Тривалість елонгації розраховували залежно від передбачуваної довжини амплікону, враховуючи, що за 1 хв. ампліфікується фрагмент довжиною 1000 п.н.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Ген *Dreb1* є транскрипційним фактором, який продукує стресові білки у відповідь на ряд абіотичних впливів, серед яких дегідротація рослин у період посухи. Ці білки діють як протектори від висихання рослини, дозволяючи їй пережити несприятливі умови [17].

Пошук послідовностей здійснювали за допомогою програми BLAST, що є складовою частиною бібліотеки геномних даних NCBI.

З використанням послідовності ДНК гену *Dreb1* рису, анотованого за номером NM807364.1, було знайдено 15 послідовностей генів-кандидатів посухостійкості амаранту. З використанням послідовностей гену посухостійкості сої *Dreb1*, анотованого за номером NE647689.1, було виділено 12 послідовностей, що могли б відповідати за посухостійкість у амаранту, а з використанням послідовностей гену посухостійкості арабідопсису *Dreb1*, анотованого за номером FJ169308.1, знайдено 13 подібних послідовностей у геномі амаранту.

Шляхом дослідження ознаки посухостійкості у пшениці нами була виділена послідовність DQ195070.1, яку використали для пошуку генів-кандидатів посухостійкості у амаранту. На її основі було знайдено 6 ділянок ДНК (див. табл. 1), які можуть бути генами-кандидатами посухостійкості у амаранту.

Нуклеотидний склад гену посухостійкості у ячменю (GU108404.1) було використано для біоінформаційного пошуку синонімичних ділянок у амаранту. В результаті було знайдено 7 подібних ділянок у геномі амаранту.

Наступним етапом роботи був аналіз подібності і поліморфізму знайдених ділянок генів-кандидатів посухостійкості амаранту. З цією метою було проведено вирівнювання виділених ділянок ДНК амаранту за допомогою програми BioEdit [18].

Проведене вирівнювання послідовностей генів-кандидатів посухостійкості амаранту, знайдених за послідовністю NM807364.1 рису дозволило відзначити суттєву різницю між послідовностями ДНК амаранту, що свідчить про значну різницю у нуклеотидному складі знайдених ділянок, що є результатом пошуку із заданим параметром «Somewhat similar sequences (blastn)» (дещо подібні секвенси), який дозволяє знайти послідовності навіть із дуже низьким ступенем подібності.

За цим самим принципом було проведено вирівнювання послідовностей ДНК амаранту, знайдених за геном *Dreb1* сої, арабідопсису, пшениці та ячменю.

Як і у попередньому випадку, результати вирівнювання показали значну відмінність виділених послідовностей амаранту, рівень подібності яких не перевищував 35 %, що свідчить про рандомний характер їх відбору програмою BLAST. Тому достовірність їх синонімічності до гену Dreb1 викликає сумнів.

Результати вирівнювання послідовностей гену-кандидату посухостійкості амаранту, знайдених за послідовністю FJ169308.1 арабідопсису, також носили рандомний характер і виявляли надмірно високий рівень поліморфізму (до 90 %) як по відношенню до послідовності арабідопсису, так і між собою.

Таким чином, аналіз вирівнювання послідовностей генів-кандидатів у амаранту, знайдених за послідовностями ДНК рису, сої, арабідопсису показав, що виділені послідовності амаранту не є достатньо синонімічними до генів посухостійкості у зазначених культур. Також було відмічено, що знайдені послідовності генів-кандидатів посухостійкості у амаранту не були синонімічними по відношенню одна до одної, характеризувалися високим рівнем поліморфізму і виявляли подібність лише на невеличких окремих ділянках. Це може свідчити про рандомний добір даних послідовностей програмою BLAST. Також це ставить під сумнів, що знайдені послідовності амаранту є послідовностями гену, який відповідає за посухостійкість.

Тому подальше проведення дослідження з цими послідовностями генетичного контролю посухостійкості у амаранту не проводили.

На основі аналізу інформаційних джерела, було знайдено дві послідовності, які авторами було описано як ті, що відповідають за посухостійкість у пшениці та ячменю (див. табл. 1). Всі отримані послідовності амаранту (див. табл. 2 і 3), знайдені на базі цих двох генів пшениці та ячменю, належали виду *Amaranthus tricolor*.

Знайдені гени-кандидати посухостійкості амаранту за послідовністю пшениці DQ195070.1 порівнювали між собою шляхом вирівнювання в програмі BioEdit.

Після вирівнювання було з'ясовано наявність двох гаплотипів генів-кандидатів посухостійкості у амаранту.

Перший гаплотип був представлений трьома послідовностями, які були майже однаковими за нуклеотидним складом і відрізнялися лише однією ділянкою – з 194 по 289 нуклеотиди. В цьому регіоні відмічено наявність двох інделей. Перший індель становив 20 нуклеотидів. Цю ділянку відмічено лише в послідовності XM\_057667624.1.

Другий індель розташовувався на відстані 215-289 нуклеотидів, розмір якого складав 75 нуклеотидів. Його було виявлено в послідовностей XM\_057667624.1 та XM\_057667623.1, але в послідовності XM\_057667625.1 він був відсутній. Дані інделі розташовані в екзоні послідовно. Отже, можна припустити існування

трьох алельних варіантів цього гена-кандидата. Кожний із цих алельних варіантів може теоретично по-різному впливати на рівень посухостійкості в амаранту.

Інший гаплотип (В) характеризувався високою мономорфністю. Було знайдено 3 послідовності у амаранту, для яких був притаманний цей гаплотип (див. табл. 1). Дана група послідовностей характеризувалася наявністю одного інделю, довжиною 4 нуклеотиди. Цей індель притаманний послідовностям XR\_009039852.1 та XM\_057667290.1 і відсутній у послідовності XM\_057667291.1.

Відмінність гаплотипу А від гаплотипу В за нуклеотидним складом становила 24 % . Крім того, відмічено наявність 20 інделей . Один із знайдених інделей виділявся серед інших, його довжина варіювала від 331 до 444 нуклеотиду, при чому в послідовності XM\_057667625.1 ця ділянка носила характер делеції, а в інших п'яти послідовностей характеризувалася поліморфізмом.

Також було відмічено 37 одонуклеотидних поліморфізмів у кінцевій частині послідовності XM\_057667624.1. Але оскільки це прикінцева ділянка, то відмінності у нуклеотидному складі цієї послідовності в порівнянні з двома іншими послідовностями цього гаплотипу, може бути пов'язаною з помилками в секвенуванні, що не рідко притаманно для початку і кінця секвенування [19]. Тому ці поліморфізми, щоб уникнути хибних висновків, не брали до уваги.

З використанням послідовності GU108404.1 ячменю було знайдено 7 синонімічних ділянок гену-кандидату посухостійкості у амаранту (див. табл. 3).

Знайдені послідовності амаранту було розподілено у три групи, які характеризувалися високою поліморфністю по відношенню одна до одної, але високою однорідністю в межах кожної групи.

До гаплотипу С (перший) було віднесено дві послідовності, які виявилися одноманітними по всій їх довжині, окрім кінцевої ділянки. Ця різниця могла бути пов'язаною з помилками під час секвенування, тому їх не бралась до уваги.

Другий гаплотип амаранту, знайдений за послідовностями ячменю, за нуклеотидним складом виявився таким самим як перший гаплотип (А) генів- кандидатів амаранту за послідовностями, знайдених у амаранту на основі послідовності DQ195070.1 пшениці.

Третій гаплотип (D) мав один індель довжиною 95 нуклеотидів, який розміщувався між 1466 та 1563 нуклеотидами. Він був виявлений лише у послідовності XM\_057679689.1 даного гаплотипу.

Таким чином, нами було виявлено чотири типи послідовностей ДНК амаранту, кожен з яких може бути геном, що відповідає за посухостійкість цієї культури [20; 21]. Оскільки гаплотипи послідовностей характеризувалися поліморфізмом їх нуклеотидного

складу, то можна припустити, що кожний із цих генів-кандидатів може мати різний вплив на прояв посухостійкості амаранту.

Наступним етапом нашої роботи було розробка праймерів. Розробляли праймери до знайдених типів послідовностей генів-кандидатів посухостійкості амаранту. Дизайн праймерів здійснювали в програмі AmplifX 2.1.1.

Як діапазон пошуку прямого праймеру вказали 20 – 190 нуклеотиди послідовності, зворотного - 300 – 1410. Такі параметри були використані, щоб обрані праймери не потрапили на початок та кінець послідовності, а також щоб уникнути потрапляння праймерів на індель, який розміщувався з 194 по 289 нуклеотиди. Довжину ампліфікованого фрагменту вказали в межах 1000 – 1390 нуклеотиди. За даними параметрами було отримано 99 пар праймерів. Кожна пара праймерів мала якість 100% та однакову температуру плавлення. Нами була обрана пара праймерів, у якої прямий починався з 20 нуклеотиду, а зворотній - з 1319, що давало можливість оцінити максимально велику ділянку ДНК гена-кандидата посухостійкості у амаранту.

Довжина ампліфікованого фрагменту для послідовності XM\_057667623.1 амаранту становила 1375 нуклеотиди, кількість GC пар складала 40%.

У таблиці 4 представлені сконструйовані праймери до гаплотипу С амаранту.

Таблиця 4. Праймери, розроблені в програмі AmplifX для послідовності XR\_009039852.1 гену-кандидату посухостійкості у амаранту

	Forward	Reverse
AmtC	gcgactctgggaattcatatc	ttgctacaacaagctgatg

Відібрані праймери характеризуються такими особливостями:

**AmtCF:** рівень димеризації – 0, кількість GC-нуклеотидів – 40%, температура плавлення – 51°C, гібридизація з послідовністю в позиції 241-262 п.н.

**AmtCR:** рівень димеризації – 0, кількість GC-нуклеотидів – 42%, температура плавлення – 51°C, гібридизація з послідовністю в позиції 1375-1401 п.н.

Запропоновані нами умови ампліфікації ДНК амаранту з праймерами AmtCF та AmtCR для послідовності XR\_009039852.1 амаранту такі: 1 цикл – денатурація – 95 °C – 5 хв.; 30 циклів: денатурація – 95 °C 30 с, відпал – 51 °C 30 с, елонгація – 72 °C – 1 хв. 20 с; 1 цикл – фінальна елонгація при 72 °C 3 хв. Передбачувана довжина амплікону 1154 нуклеотидів [22; 23].

Оскільки перший гаплотип амаранту, знайдений за послідовністю пшениці, був ідентичний другому гаплотипу, знайденому за послідовністю ячменю, то параметри пошуку не змінювали.

Довжина прямого праймеру становила – 20 нуклеотидів, зворотного – 18. Якість обох праймерів дорівнювала 100%.

У таблиці 5 наведені нуклеотидні послідовності праймерів для послідовності XM\_057679690.1 амаранту.

**Таблиця 5. Праймери, розроблені в програмі AmplifX для послідовності XM\_057679690.1 гену-кандидату посухостійкості у амаранту**

	<b>Forward</b>	<b>Reverse</b>
AmtD	caatcatgtgtggaggagcagta	tagagtctcaaatggaagggcaaac

Відібрані праймери характеризуються такими особливостями:

**AmtDF**: рівень димеризації – 0, кількість GC-нуклеотидів – 45%, температура плавлення – 57°C, гібридизація з послідовністю в позиції 247-270 п.н.

**AmtDR**: рівень димеризації – 0, кількість GC-нуклеотидів – 44%, температура плавлення – 57°C, гібридизація з послідовністю в позиції 1567-1591 п.н.

Запропоновані нами умови ампліфікації ДНК амаранту з праймерами AmtDF та AmtDR для послідовності XM\_057679690.1 амаранту такі: 1 цикл – денатурація – 95 °C – 5 хв.; 30 циклів: денатурація – 95 °C 30 с, відпал – 51 °C 30 с, елонгація – 72 °C – 1 хв. 30 с; 1 цикл – фінальна елонгація при 72 °C 3 хв. Передбачувана довжина амплікону 1345 нуклеотидів [24; 25].

Для того, щоб підтвердити якість та діагностичну спроможність розроблених пар праймерів, необхідно провести тестування їх на рослинному матеріалі з відомим генотипом.

Розроблені праймери можна буде використовувати для маркерної селекції з дослідження посухостійкості амаранту, але лише після підтвердження їх якості.

**Висновки.** Проведено біоінформаційний пошук генів посухостійкості для різних сільськогосподарських культур. Було виділено 53 послідовності, які використали для подальшого аналізу. Після вирівнювання було ідентифіковано 13 послідовностей ДНК, які потенційно можуть відповідати за посухостійкість у амаранту. На основі послідовності пшениці було знайдено 6 фрагментів ДНК амаранту, які були розподілені на два гаплотипи (А і В). Гаплотип А характеризувався наявністю 3 алельних варіантів, які відрізнялися між собою наявністю/відсутністю інделей у позиції з 194 по 289 нуклеотиди. Гаплотип В характеризувався наявністю 2 алелів, що відрізнялися інделем довжиною 4 нуклеотиди. На основі послідовності ячменю було знайдено 7 фрагментів ДНК амаранту, які були розподілені на три

гаплотипи, другий гаплотип якого був ідентичним до першого (А) гаплотипу амаранту, знайденого на основі послідовності пшениці. Гаплотип С характеризувався наявністю одного алелю. Для гаплотипу D відмічено два алелі, які розрізнялися інделем довжиною 95 нуклеотидів. Розроблено по парі діагностичних праймерів для кожного знайденого гаплотипу генів-кандидатів посухостійкості амаранту. Розроблені праймери можна використовувати в маркерній селекції для створення посухостійких сортів та гібридів амаранту.

**Конфлікт інтересів.** Автори повідомляють про відсутність конфлікту інтересів.

#### **Список використаних джерел**

1. Singh A., Kumar Mahato A., Maurya A. Amaranth Genomic Resource Database: an integrated database resource of Amaranth genes and genomics. *Front Plant Sci.* 2023. Vol. 14. P. 38–55. DOI: 10.3389/fpls.2023.1203855.
2. Eerapagula R., et al. Genome-wide analysis of NAC transcription factors in grain amaranth reveals structural diversity and regulatory features. *Scientific Reports.* 2022. Vol. 15. P. 23–630. DOI: 10.1038/s41598-025-23630-7.
3. Nkuna M., Huerta-Ocampo J., Cabrales-Orona G. Drought tolerance mechanisms in grain and vegetable *Amaranthus* species: physiological, biochemical and molecular insights. *Agronomy.* 2025. Vol. 11, №. 10. P. 12–26. URL: <https://www.mdpi.com/2311-7524/11/10/1226>.
4. Huerta-Ocampo J., et al. PopAmaranth: Population-genomic insights into *Amaranthus* species reveal candidate drought tolerance genes. *Genes/Genomes/Genetics.* 2020. Vol. 11, №. 7. P. 217–233. URL: <https://academic.oup.com/g3journal/article-abstract/11/7/jkab103/6208888>.
5. Hassan A., Huerta-Ocampo J., Nkuna M. Transcriptional regulation of drought-responsive genes in *Amaranthus hypochondriacus*: focus on DREB2A, ABI5, RAB18, and LEA14. *Plants.* 2023. Vol. 14, №. 3. P. 345. URL: <https://www.mdpi.com/2311-7524/11/10/1226>.
6. Zheng J., et al. Redox-mediated adaptive responses to water deficit in *Amaranthus* species from West Bengal, India. *Plant Physiology and Biochemistry.* 2025. Vol. 198. P. 85–97. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0254629925004612>.
7. Liu Y., et al. Phylogenetic and functional analysis of WRKY transcription factor family in *Amaranthus hypochondriacus* under abiotic stress. *Journal of Experimental Botany.* 2020. Vol. 76, №. 12. DOI: 10.1093/jxb/erac123.
8. Cabrales-Orona G., et al. Functional characterization of stress-responsive genes AhHAB4-PAI-1 and Ah2880 in transgenic models of

Amaranthus. *PubMed*. 2024. Vol. 100. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/41675614>

9. Zhou Y., et al. Overexpression of soybean *DREB1* enhances drought stress tolerance of transgenic wheat in the field. *Journal of Experimental Botany*. 2020. Vol. 71. P. 1234–1245. DOI: 10.1093/jxb/eraa123.

10. Alzohairy A.M. BioEdit: An important software for molecular biology. *GERF Bulletin of Biosciences*. 2011. Vol. 2, № 1. P. 60–61.

11. Kopecka R., Kameniarova M., Cerny M., Brzobohaty B., Novak J. Abiotic Stress in Crop Production. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023. Vol. 24, № 7. P. 66–73. URL: <https://doi.org/10.3390/ijms24076603>.

12. Bandurska H., Niedziela J., Pietrowska-Borek M., Nuc K., Chadzinikolau T., Radzikowska D. Regulation of proline biosynthesis and resistance to drought stress in two barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes of different origin. *Plant Physiol Biochem*. 2017. Vol. 118. P. 427–437. DOI: 10.1016/j.plaphy.2017.07.006.

13. Karim S., Aronsson H., Ericson H., Pirhonen M., Leyman B., Welin B., Mäntylä E., Palva E.T., Van Dijck P., Holmström K.O. Improved drought tolerance without undesired side effects in transgenic plants producing trehalose. *Plant Mol Biol*. 2007. Vol. 64, № 4. P.37–86. DOI: 10.1007/s11103-007-9159-6.

14. Yu M., Yu Y., Guo S., Zhang M., Li N., Zhang S., Zhou H., Wei F., Song T., Cheng J., Fan Q., Shi C., Feng W., Wang Y., Xiang J., Zhang X. Identification of TaBADH-A1 allele for improving drought resistance and salt tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Front Plant Sci*. 2022. Vol.1, № 13. P. 94–235. DOI: 10.3389/fpls.2022.942359

15. Qin P., Lin Y., Hu Y., Liu K., Mao S., Li Z., Wang J., Liu Y., Wei Y., Zheng Y. Genome-wide association study of drought-related resistance traits in *Aegilops tauschii*. *Genet Mol Biol*. 2016. Vol. 39, №3. P. 398–407. DOI: 10.1590/1678-4685-GMB-2015-0232.

16. Janzen G., Dittmar E., Langlade N., Blanchet N., Donovan L., Temme A., Burke J. Similar Transcriptomic Responses to Early and Late Drought Stresses Produce Divergent Phenotypes in Sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Int J Mol Sci*. 2023. Vol. 24, № 11. P. 93–151. DOI: 10.3390/ijms24119351.

17. Fang Y., Xiong L. General mechanisms of drought response and their application in drought resistance improvement in plants. *Cell. Mol. Life Sci*. 2015. Vol. 72. P. 673–689. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00018-014-1767-0>.

18. Joshi DC., Sood S., Hosahatti R., Kant L., Pattanayak A., Kumar A., Yadav D., Stetter M. From zero to hero: the past, present and future of grain amaranth breeding. *Theor Appl Genet*. 2018. Vol. 131, № 9. P. 1807–1823. DOI: 10.1007/s00122-018-3138-y.

19. Jamalluddin N., Massawe F.J., Mayes S., Ho W.K., Symonds R.C. Genetic diversity analysis and marker-trait associations in *Amaranthus* species. *PLOS ONE*, 2022. Vol. 17, №5. P. 1–24. DOI: 10.1371/journal.pone.0267752.

20. Gelotar M.J., Dharajiya D.T., Solanki S.D. et al. Genetic diversity analysis and molecular characterization of grain amaranth genotypes using inter simple sequence repeat (ISSR) markers. *Bull Natl Res Cent*. 2019. Vol. 43, № 103. P. 314–319. URL: <https://doi.org/10.1186/s42269-019-0146-2>.

21. Ray T., Roy S.C. Genetic diversity of *Amaranthus* species from the Indo-Gangetic plains revealed by RAPD analysis leading to the development of ecotype-specific SCAR marker. *J. Hered.* 2009. Vol. 100, № 3. P. 338–347.

22. Délano-Frier J. P., Avilés-Arnaut H., Casarrubias-Castillo K., Casique-Arroyo G., Castrillón-Arbeláez P. A., Herrera-Estrella L., Massange-Sánchez J., Martínez-Gallardo N. A., Parra-Cota F. I., Vargas-Ortiz E. Transcriptomic analysis of grain amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*). *BMC Genomics*. 2011. Vol. 12. P. 363. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2164-12-363>

23. Massange-Sánchez J., Palmeros-Suárez P. A., Espitia-Rangel E., Rodríguez-Arevalo I., Sánchez-Segura L., Herrera-Estrella L. Overexpression of transcription factors AhERF and AhDOF enhances stress tolerance in amaranth. *PLOS ONE*. 2016. Vol. 11, № 9. P. 16–31. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0160921>

24. Lata C., Prasad M. Role of DREBs in regulation of abiotic stress responses in plants. *Journal of Experimental Botany*. 2011. Vol. 62, №. 14. P. 4731–4748. DOI: <https://doi.org/10.1093/jxb/err210>

25. Rushton P. J., Somssich I. E., Ringler P., Shen Q. J. WRKY transcription factors. *Trends in Plant Science*. 2010. Vol. 15, №. 5. P. 247–258. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.02.006>

## REFERENCES

1. Singh A., Kumar Mahato A., Maurya A. (2023). Amaranth Genomic Resource Database: an integrated database resource of Amaranth genes and genomics. *Front Plant Sci*, 14, 38–55. DOI: 10.3389/fpls.2023.1203855.

2. Eerapagula R., et al. (2022). Genome-wide analysis of NAC transcription factors in grain amaranth reveals structural diversity and regulatory features *Scientific Reports*, 15, 23–630. DOI: 10.1038/s41598-025-23630-7.

3. Nkuna M., Huerta-Ocampo J., Cabrales-Orona G. (2025). Drought tolerance mechanisms in grain and vegetable *Amaranthus* species: physiological, biochemical and molecular insights *Agronomy*, 11(10), 12–26. URL: <https://www.mdpi.com/2311-7524/11/10/1226>.

4. Huerta-Ocampo J., et al. (2020). PopAmaranth: Population-genomic insights into *Amaranthus* species reveal candidate drought tolerance genes *Genes/Genomes/Genetics*, 11(7), 217–233. URL: <https://academic.oup.com/g3journal/article-abstract/11/7/jkab103/6208888>.
5. Hassan et al. (2023). Transcriptional regulation of drought-responsive genes in *Amaranthus hypochondriacus*: focus on DREB2A, ABI5, RAB18, and LEA14. *Plants*, 14(3), 345. URL: <https://www.mdpi.com/2311-7524/11/10/1226>.
6. Hassan A., Huerta-Ocampo J., Nkuna M. (2025). Redox-mediated adaptive responses to water deficit in *Amaranthus* species from West Bengal, India. *Plant Physiology and Biochemistry*, 198, 85-97. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0254629925004612>.
7. Liu Y., et al. (2020). Phylogenetic and functional analysis of WRKY transcription factor family in *Amaranthus hypochondriacus* under abiotic stress. *Journal of Experimental Botany*, 76(12). DOI: 10.1093/jxb/erac123.
8. Cabrales-Orona G., et al. (2024). Functional characterization of stress-responsive genes AhHAB4-PAI-1 and Ah2880 in transgenic models of *Amaranthus*. *PubMed*, 100. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/41675614>
9. Zhou Y., et al. (2020). Overexpression of soybean *DREB1* enhances drought stress tolerance of transgenic wheat in the field. *Journal of Experimental Botany*, 71, 1234–1245. DOI: 10.1093/jxb/eraa123.
10. Alzohairy A.M. (2011). BioEdit: An important software for molecular biology. *GERF Bulletin of Biosciences*, 2 (1), 60–61.
11. Kopecka R., Kameniarova M., Cerny M., Brzobohaty B., Novak J. (2023). Abiotic Stress in Crop Production. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(7), 66–73. URL: <https://doi.org/10.3390/ijms24076603>.
12. Bandurska H., Niedziela J., Pietrowska-Borek M., Nuc K., Chadzinikolau T., Radzikowska D. (2017). Regulation of proline biosynthesis and resistance to drought stress in two barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes of different origin. *Plant Physiol Biochem*, 118, 427–437. DOI: 10.1016/j.plaphy.2017.07.006.
13. Karim S., Aronsson H., Ericson H., Pirhonen M., Leyman B., Welin B., Mäntylä E., Palva E.T., Van Dijck P., Holmström K.O. (2007). Improved drought tolerance without undesired side effects in transgenic plants producing trehalose. *Plant Mol Biol*, 64(4), 37–86. DOI: 10.1007/s11103-007-9159-6.
14. Yu M., Yu Y., Guo S., Zhang M., Li N., Zhang S., Zhou H., Wei F., Song T., Cheng J., Fan Q., Shi C., Feng W., Wang Y., Xiang J., Zhang X. (2022). Identification of TaBADH-A1 allele for improving drought resistance and salt tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Front Plant Sci.*, 1(13), 94–235. DOI: 10.3389/fpls.2022.942359
15. Qin P., Lin Y., Hu Y., Liu K., Mao S., Li Z., Wang J., Liu Y., Wei Y., Zheng Y. (2016). Genome-wide association study of drought-related

resistance traits in *Aegilops tauschii*. *Genet Mol Biol.*, 39(3), 398–407. DOI: 10.1590/1678-4685-GMB-2015-0232.

16. Janzen G., Dittmar E., Langlade N., Blanchet N., Donovan L., Temme A., Burke J. (2023). Similar Transcriptomic Responses to Early and Late Drought Stresses Produce Divergent Phenotypes in Sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Int J Mol Sci.*, 24(11), 93–151. DOI: 10.3390/ijms24119351.

17. Fang Y., Xiong L. (2015). General mechanisms of drought response and their application in drought resistance improvement in plants. *Cell. Mol. Life Sci.*, 72, 673–689. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00018-014-1767-0>.

18. Joshi DC., Sood S., Hosahatti R., Kant L., Pattanayak A., Kumar A., Yadav D., Stetter M. (2018).. From zero to hero: the past, present and future of grain amaranth breeding. *Theor Appl Genet.*, 131(9), 1807–1823. DOI: 10.1007/s00122-018-3138-y.

19. Jamalluddin N., Massawe F.J., Mayes S., Ho W.K., Symonds R.C.(2022). Genetic diversity analysis and marker-trait associations in *Amaranthus* species. *PLOS ONE*, 17(5), 1–24. DOI: 10.1371/journal.pone.0267752.

20. Gelotar M.J., Dharajiya D.T., Solanki S.D. et al. (2019). Genetic diversity analysis and molecular characterization of grain amaranth genotypes using inter simple sequence repeat (ISSR) markers. *Bull Natl Res Cent.*, 43(103), 314–319 URL: <https://doi.org/10.1186/s42269-019-0146-2>.

21. Ray T., Roy S.C. (2009). Genetic diversity of *Amaranthus* species from the Indo-Gangetic plains revealed by RAPD analysis leading to the development of ecotype-specific SCAR marker. *J. Hered.*, 100(3), 338–347.

22. Délano-Frier J. P., Avilés-Arnaut H., Casarrubias-Castillo K., Casique-Arroyo G., Castrillón-Arbeláez P. A., Herrera-Estrella L., Massange-Sánchez J., Martínez-Gallardo N. A., Parra-Cota F. I., Vargas-Ortiz E. (2011). Transcriptomic analysis of grain amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*). *BMC Genomics*, 12, 363. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2164-12-363>

23. Massange-Sánchez J., Palmeros-Suárez P. A., Espitia-Rangel E., Rodríguez-Arevalo I., Sánchez-Segura L., Herrera-Estrella L. (2016). Overexpression of transcription factors AhERF and AhDOF enhances stress tolerance in amaranth. *PLOS ONE.*, 11(9), 16–31. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0160921>

24. Lata C., Prasad M. (2011). Role of DREBs in regulation of abiotic stress responses in plants. *Journal of Experimental Botany*, 62(14), 4731–4748. DOI: <https://doi.org/10.1093/jxb/err210>

25. Rushton P. J., Somssich I. E., Ringler P., Shen Q. J. (2010). WRKY transcription factors. *Trends in Plant Science*, 15(5), 247–258. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.02.006>

Отримано: 06.04.2026. Прийнято: 16.04.2026. Опубліковано: 22.05.2026.