

Основываясь на полученных данных можно утверждать, что супер-экспрессия гена *At5g10080*, кодирующего белок класса аспартиловых протеаз А1 локализирующегося в клеточных мембранах приводит к нарушениям нормального морфогенеза растений – замедляет рост, изменяет окраску и приводит к уменьшенному габитусу взрослых растений. Супер-экспрессия гена *At1g33390*, кодирующего белок класса АТФ-зависимых хеликаз вызывает нарушения нормального развития стеблей растений, а именно вызывает развитие фасцированного стебля. Изменение экспрессии гена *At5g13760*, кодирующего белок содержащий пролин-богатый домен приводит к нарушениям нормального развития растений, а именно вызывает замедление роста и уменьшение фертильности.

Литература.

1. *Feldmann, K., Marks, M.*, Agrobacterium-mediated transformation of germinating seeds of *Arabidopsis thaliana*: A non-tissue culture approach. *Mol. Gen. Genet.* 1987. 208, 1-9
2. *Bechtold, N., Ellis, J., Pelletier, G.*, In planta Agrobacterium-mediated gene transfer by infiltration of adult *Arabidopsis thaliana* plants. Paris: C. R. Acad. Sci. Sciences de la vie / Life sciences. 1993-316, 1194-1199.
3. *Bechtold, N., Pelletier G.*, In planta Agrobacterium-mediated transformation of adult *Arabidopsis thaliana* plants by vacuum infiltration. *Methods Mol Biol.* 1998. 82, 259-266
4. *Höfgen, R., Willmitzer, L.*, Storage of competent cells for Agrobacterium transformation. *Nucl. Acids Res.* 1988. 16, 9877
5. *Koncz, C., Martini, N., Szabados, L., Hrouda, M., Bachmair, A., Schell, J.*, Specialized vectors for gene tagging and expression studies. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. 1994- B1-22
6. *Pogorelko, G., Fursova, O., Ogarkova, O., Tarasov, V.*, New vector system for induction of gene expression in dicotyledonous plants. *Genetika (Rus)* 2007. 43-2, 194-201
7. *Weigel, D. et al.*, Activation tagging in *Arabidopsis*. *Plant Physiology.* 2000. 122-4, 1003-13

РАХМЕТОВ Д.Б.², БАЄР Г.Я.¹, СТАДНІЧУК Н.О.², ЄМЕЦЬ А.І.¹, БЛЮМ Я.Б.¹

¹*Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України,*

Україна, 03680, Київ, вул. акад. Заболотного, 148,

E-mail: galinabayer@univ.kiev.ua

²*Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка НАН України,*

Україна, 01014, Київ, вул. Тимірязєвська, 1

ВИВЧЕННЯ БІОХІМІЧНИХ ХАРАКТЕРИСТИК СОМАКЛОНАЛЬНИХ ВАРІАНТІВ ПАЛЬЧАСТОГО ПРОСА

Традиційний селекційний процес, що базується на використанні статевої гібридизації як засобу передачі генетичної інформації, дозволив досягти значних успіхів у підвищенні урожайності і якості багатьох культур, однак інтенсифікація сільського господарства ставить перед селекціонерами складні задачі по створенню нових сортів, що відрізняються високою врожайністю, стійкістю до хвороб, шкідників, стресових факторів навколишнього середовища, високою пластичністю. Для створення більш досконалих сортів необхідно розробляти нові прискорені методи підвищення результативності селекційного процесу. Одним з важливих шляхів у цьому напрямі на сьогоднішній день є використання біотехнологічних прийомів, одним з яких є отримання соматоклональних варіантів в культурі *in vitro*, які набули нових ознак. Перевагою даного методу є поява нових форм з високим рівнем адаптації і неспецифічної стійкості до шкідливих факторів навколишнього середовища з покращеними господарсько цінними характеристиками (Arun et al., 2003; Bulk, 1991;

Carver and Jonson, 1989; Maralappanavar et al., 2000; Mohmand and Nabros, 1990; Patnaik et al., 1999). Отже, виходячи з наведеного вище, соматоклональну варіабельність розглядають як ефективний інструмент, що значно прискорює селекційний процес у процесі створення нових сортів рослин.

Останнім часом особливу увагу привертає створення нових сортів нетрадиційних культур, серед яких важливе значення має пальчасте просо (*Eleusine coracana* (L.) Gaertn.) як зернова та фуражна культура, а також сировина для виробництва біоетанолу. Раніше нами було отримано соматоклональні варіанти пальчастого проса (Емец и др., 2003), серед яких було відібрано три лінії SE-1, SE-4, SE-7, котрі відрізнялись високою врожайністю, скороченим періодом вегетації та здатністю проростати при нижчих температурах у порівнянні з вихідною лінією (Баер и др., 2007). Тому метою даної роботи було проведення біохімічного аналізу соматоклональних варіантів для виявлення генотипів з покращеними господарськими якостями.

Матеріали та методи

В роботі використовували вихідну лінію *E. coracana* (Стадничук и др., 2003) і три лінії соматоклональних варіантів пальчастого проса: SE-1, SE-4, SE-7 (Баер и др., 2007). Біохімічну оцінку насіння та надземної маси проводили згідно стандартних методик (Крищенко, 1983; Починок, 1976; Разумов, 1986).

Результати та обговорення

Порівняльні дослідження біохімічного складу надземної маси і насіння дозволили встановити, що за кількістю поживних, мінеральних та біологічно активних речовин соматоклони перевищують вихідну лінію (Табл. 1-3). Так, зокрема, не дивлячись на те, що за вмістом сухої речовини у надземній масі майже немає відмінності між соматоклонами SE-1, SE-7 і контролем, у варіанті SE-4 даний показник дещо нижчий. Однак вміст ліпідів у надземній масі даного соматоклону майже вдвічі вищий порівняно з контролем і становить 4%, тоді як у двох інших зразках цей показник на відсоток нижчий порівняно з контролем. Найменший вміст клітковини був у соматоклонального варіанту SE-1, а найбільший – у SE-4 і SE-7. За кількістю загального білку і аскорбінової кислоти, що знаходилися у надземній масі рослин, усі соматоклони переважали контроль. При цьому слід виділити соматоклон SE-1, для якого відмічали загальний вміст білку на рівні 7,47 % та аскорбінової кислоти – 736,03 мг %, тоді як для контролю дані показники були в півтора-два рази меншими.

Таблиця 1

Біохімічна характеристика надземної маси соматоклональних варіантів та вихідної лінії пальчастого проса *E. coracana* на початку фази колосіння

Варіант	Суша речовина, %	Ліпіди, %	Клітковина, %	Білок, %	Аскорбінова кислота, мг %	Каротин, мг %	БЕР, %	Зола, %	Загальний цукор, %
Контроль	28,82	2,81	36,49	4,88	280,15	1,73	49,37	6,45	5,38
SE-1	29,08	1,85	34,00	7,47	736,03	2,68	53,92	4,76	6,16
SE-4	21,69	4,01	39,32	6,84	373,44	4,10	42,02	7,81	13,51
SE-7	27,45	1,99	38,40	5,40	321,95	2,92	50,61	3,61	7,91

Таблиця 2

2

Біохімічна характеристика насіння соматоклональних варіантів та вихідної лінії пальчастого проса *E. coracana*

Варіант	Суша речовина, %	Ліпіди, %	Клітковина, %	Білок, %	Каротин, мг %	БЕР, %	Зола, %	Загальний цукор, %

Контроль	90,27	0,63	2,9	10,3	0,7	83,17	2,84	1,6
SE-1	90,94	0,89	3,5	8,7	0,9	83,80	2,99	2,0
SE-4	91,03	1,44	2,9	8,6	0,5	84,43	2,58	2,0
SE-7	91,02	0,84	2,7	6,9	1,0	87,0	2,9	2,1

Таблиця 3

Біохімічна характеристика надземної маси (на початку колосіння) та насіння соматоклональних варіантів та вихідної лінії *E. coracana*

Варіант	Мікроелементи, % на абсолютно суху речовину					
	надземна маса на початку колосіння			Насіння		
	Азот	P ₂ O ₅	CaO	азот	P ₂ O ₅	CaO
Контроль	0,78	0,60	0,51	1,6	0,6	0,08
SE-1	1,19	0,67	0,58	1,4	0,5	0,19
SE-4	1,09	0,44	0,63	1,4	0,5	0,05
SE-7	0,82	0,65	0,51	1,0	0,5	0,06

Ще одним важливим вітаміном для нормальної життєдіяльності організму є вітамін А. У рослинних кормах міститься не сам вітамін А, а його провітаміни - каротиноїди. Вміст каротину в надземній масі SE-4 був вдвічі більшим за контроль – 4,1%, два інші соматоклони мали дещо нижчі показники від попереднього, однак незначно переважали контроль. Вміст безазотистої екстрактивної речовини (БЕР), яка включає в себе крохмаль, цукри, геміцелюлози і пектини, був достатньо високим у надземній масі всіх зразків і знаходився на рівні 50%. Одним з факторів, що впливає на енергоємність є кількість золи в сухій речовині. Як правило, вміст золи у вегетативній частині рослини значно вищий, ніж у насінні (Омельяненко, 1985). Найбільша кількість золи знайдена в надземній масі соматоклону SE-4-7,81 %, тоді як в SE-7 містилось золи майже вдвічі менше порівняно з контролем. Було також досліджено вміст загального цукру. В результаті було виявлено, що за даною характеристикою всі соматоклони перевищують контроль. Так, у надземній масі варіанту SE-4 містилося вдвічі більше цукру ніж у контролю - 13,51% і 5,38%, відповідно.

За вмістом сухої речовини в насінні майже не було відмінності серед досліджуваних зразків, однак по вмісту ліпідів слід виділити SE-4, в якому їх знаходилося вдвічі більше порівняно з контролем. Інші соматоклони майже не відрізнялися від контролю за даним показником. Не зважаючи на те, що у SE-1 містилося найменше клітковини у надземній масі, в насінні вміст даної сполуки був найвищим. За кількістю білку в насінні переважав контроль, тоді як у соматоклональних варіантів SE-1 та SE-4 значення майже не відрізнялися. У SE-7 вміст білку був найменшим. За вмістом золи дещо відставав соматоклон SE-4. Найбільший вміст БЕР відмічали у соматоклону SE-7, у насінні двох інших соматоклонів кількість даної речовини була однаковою. В результаті дослідження концентрації цукру в як в насінні, так і в надземній масі відповідні показники для соматоклонів перевищували контрольний варіант. Зокрема, всі соматоклони містили 2 % цукру в надземній масі, і 1,6 % цукру знаходилося у насінні вихідної лінії. Тож, крім вихідної лінії всі соматоклони містили однаково високу концентрацію цукру.

Важливим показником для кормових культур є вміст мікроелементів. Біохімічний аналіз соматоклонів показав, що у наземній біомасі соматоклонів знаходиться дещо вищий вміст азоту і становить від 0,82 до 1,19% відповідно для варіантів SE-7 і SE-1, однак у насінні контрольного варіанту знаходилася найбільша кількість азоту. За вмістом фосфору в надземній масі та насінні значних відмінностей між зразками не відмічали. Одержані результати за вмістом мікроелементів у надземній масі та насінні показали, що соматоклони *E. coracana* мають досить високий рівень вмісту кальцію та фосфору, що взагалі не характерно для злакових культур, по цих показниках соматоклони

не поступаються таким бобовим культурам, як люцерна посівна і соя (Омельяненко, 1985; Reed, 1976).

Отже, як видно з представлених результатів, у надземній масі соматоклону SE-1 міститься найбільша кількість білку, БЕР, сухої речовини, аскорбінової кислоти та найменший вміст клітковини. Виходячи з вищенаведеного, соматоклон SE-1 можна рекомендувати як високоякісну кормову культуру, а варіант SE-4 завдяки підвищеному вмісту цукру представляє інтерес як біоенергетична культура для виробництва етанолу.

Робота виконана за підтримки цільової комплексної програми НАН України «Біомаса як паливна сировина», грант № 6/П-19-07(2007-2009 рр.).

Література

Емец А.И., Баер Г.Я., Климкина Л.А., Стадничук Н.А., Абрамов А.А., Блюм Я.Б. Введение в культуру *in vitro* и регенерация растений дагуссы *Eleusine coracana* (L.) Gaertn. сорта Тропиканка // Физиол. биохим. культ. растений.-2003. – Т.35, № 2. – С. 1-8.

Крищенко В.П. Методы оценки качества растительной продукции.- Москва.-1983.-192с.

Починок Х.М. Методы биохимического анализа растений. – К.:Наук. Думка. – 1976. – 334с.

Разумов В.А. Справочник лаборанта-химика по анализу кормов. – Москва. – 1986.-304с.

Омельяненко А.А. Справочник по качеству кормов. – К.: Урожай, 1985. – 192 с.

Стадничук Н.О. Интродукция *Eleusine coracana* (L.) Gaertn. на уровне сорта в Лесостепи Украины //Биологическое разнообразие. Интродукция растений. –Санкт-Петербург. – 2003. – С. 257-259.

Arun B., Joshi A.K., Chand R., Singh B.D. Wheat somaclonal variants showing earliness, improved spot blotch resistance and higher yield //Euphytica. – 2003. – 132. – P. 235-241.

Bulk R.W. Application of cell and tissue culture and *in vitro* selection for disease resistance breeding - a review //Euphytica. – 1991. – 56. – P. 269-285.

Carver B.F., Jonson B.B. Partitioning of variation derived from tissue culture of winter wheat //Theor. Appl. Genet. – 1989. – 78. – P. 405-410.

Larkin P., Scowcroft W.R. Somaclonal variation - a novel source of variability from cell culture for plant improvement // Theor. Appl. Genet. – 1981. – 60. – P. 197-214.

Maralappanavar M. S., Kuruvinashetti M.S., Harti C.C. Regeneration, establishment and evaluation of somaclones in *Sorghum bicolor* (L.) Moench. //Euphytica. – 2000. – 115. – P. 173-180.

Mohmand A.S., Nabors M.W. Somaclonal variant plants of wheat derived from mature embryo explants of three genotypes // Plant Cell Rep. – 1990. – 8. – P. 558-560.

Patnaik J., Sahoo S., Debata B.K. Somaclonal variation in cell suspension culture-derived regenerants of *Cymbopogon martinii* (Roxb.) Wats var. *motia* //Plant Breed. – 1999. – 118. – P. 351-354.

Reed C. F., 1976. Information summaries on 1000 economic plants. Typescripts submitted to the USDA.

Ryan S. A., Larkin P. J., Ellison F. W. Somaclonal variation in some agronomic and quality characters in wheat //Theor. Appl. Genet. – 1987. – 74. – P. 77-82.

Резюме

У роботі наведено результати біохімічного аналізу соматоклональних варіантів пальчастого проса *E. coracana*. За цінними господарськими характеристиками соматоклон SE-1 можна рекомендувати використовувати як кормову культуру, а SE-4, завдяки підвищеному вмісту цукру, представляє інтерес як біоенергетична рослина для виробництва етанолу.

В работе представлены результаты биохимического анализа соматоклональных вариантов пальчатого проса *E. coracana*. Благодаря ценным хозяйственным признакам соматоклон SE-1 можно рекомендовать использовать в качестве кормовой культуры, а SE-4, благодаря повышенному содержанию сахара представляет интерес как биоэнергетическая культура для производства этанола.

The results of biochemical analysis of somaclonal variants of finger millet *E. coracana* have been presented in this report. Owing to the important economic traits the somaclon SE-1 can be recommended to use as qualitative feed crop, and due to high sugar content SE-4 is of interest as bio-energetic culture for bioethanol production.

СОРОЧИНСЬКИЙ Б.В., БЛЮМ Я.Б.

*Інститут клітинної біології і генетичної інженерії НАН України,
вул. Заболотного 148, Київ, 03143, e-mail: bsorochinsky@yahoo.com*

ПРИНЦИПИ РЕГУЛЮВАННЯ ДІЯЛЬНОСТІ, ЩО СТОСУЄТЬСЯ ГМ ОРГАНІЗМІВ, ТА ДЕЯКІ ПРОБЛЕМИ БІОБЕЗПЕКИ В УКРАЇНІ

Масштаби досліджень та сфера застосування генетично модифікованих організмів (ГМО) зростають з року в рік, що вимагає розроблення правових засад та формування відповідних національних і міжнародних систем біобезпеки при роботі з ГМО. Ефективна система біобезпеки повинна регулювати та регламентувати дослідницькі роботи на етапі створення ГМО, їх реєстрації і використання та запобігти також неконтрольованому розповсюдженню та поширенню генетично модифікованих організмів.

Під біобезпекою стосовно генетично модифікованих організмів розуміють стан захищеності, що досягається за допомогою використання системи заходів, які направлені на запобігання або пониження до безпечного рівня можливих шкідливих впливів ГМ організмів на здоров'я людини та на навколишнє середовище. Система біобезпеки повинна, насамперед, бути ефективною адміністративною системою, що керується в своїй діяльності відповідною законодавчою базою. Така система повинна забезпечувати обґрунтоване прийняття рішень стосовно різних етапів генно-інженерної діяльності, включаючи оцінку і попередження ймовірного ризику при її здійсненні на етапі проведення науково-дослідних робіт, та в інших видах діяльності, а також передбачити механізми залучення громадськості до прийняття рішень стосовно вивільнення ГМО для практичного використання. Відповідна законодавча, на яку спирається функціонування системи біобезпеки, повинна врегулювати питання, що мають відношення до всіх головних напрямів генно-інженерної практики, враховуючи діяльність в замкнених системах, тобто системах, які дозволяють ізолювати генетично-модифіковані організми від контактів з навколишнім середовищем; вивільнення ГМО в навколишнє середовище та їх використання в господарській діяльності, включаючи також і правові акти, що зазначають правила ввозу ГМ організмів в країну та їх вивіз за кордон.

Регулювання активності стосовно ГМО впроваджене в США та в країнах Західної Європи з кінця 80-х років. Станом на сьогодні велика кількість країн, у т.ч. і країн так званого "третього світу" в Азії, Африці та Латинській Америці, впровадили національне законодавство стосовно регулювання, вивільнення та маркування генетично модифікованої продукції. Загалом, вже понад 50 країн мають відповідну законодавчу базу, що регламентує процедуру створення, випробування та використання генетично модифікованих організмів. Передумовою для розроблення законодавчої та нормативно-правової бази стосовно генетично модифікованих організмів можна