

УДК 581.143.6:633.179:582.5.42.11

СОМАКЛОНАЛЬНАЯ ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ В КУЛЬТУРЕ IN VITRO КАК ИСТОЧНИК ПОЛУЧЕНИЯ СЕЛЕКЦИОННОГО МАТЕРИАЛА ПАЛЬЧАТОГО ПРОСА *ELEUSINE CORACANA* (L.) GAERTN.

Г.Я. БАЕР,¹ Д.Б. РАХМЕТОВ,² Н.А. СТАДНИЧУК,² А.И. ЕМЕЦ,¹ Я.Б. БЛЮМ¹

¹Институт клеточной биологии и генетической инженерии Национальной академии наук Украины

03143 Киев, ул. Академика Заболотного, 148

²Национальный ботанический сад им. Н.Н. Гришко Национальной академии наук Украины

01014 Киев, ул. Тимирязевская, 1

Представлены данные по использованию культуры *in vitro* для получения соматоклональных вариантов пальчатого проса (*Eleusine coracana*), которые можно рассматривать в качестве исходного селекционного материала для последующего создания новых сортов данного злака. Среди исследованных вариантов выделены три наиболее перспективные линии. На основании результатов биохимического анализа установлено, что линия SE-1 обладает высоким содержанием белка, безазотистых экстрактивных веществ, сухого вещества при наименьшем количестве клетчатки, соматоклон SE-4 характеризуется как биоэнергетическая культура благодаря повышенному содержанию сахара. Линия SE-7 интересна для селекционеров, поскольку обладает повышенной урожайностью семян и зеленой массы, ускоренным прохождением основных фаз развития. Полученные результаты исследований позволяют рассматривать соматоклональную изменчивость как инструмент для создания новых сортов.

Ключевые слова: *Eleusine coracana* (L.) Gaertn., пальчатое просо, соматоклональная изменчивость, селекция, продуктивность растений.

В настоящее время в ходе создания новых сортов сельскохозяйственных растений все шире применяются биотехнологические приемы. Способность растений к соматоклональной изменчивости в процессе образования каллюсной ткани и ее культивирования в условиях *in vitro* достаточно эффективно используется в селекции как метод получения новых генотипов. Результаты разных исследователей свидетельствуют о том, что соматоклональная изменчивость может проявляться в изменении продолжительности вегетационного периода растений, урожайности и других важных агрономических признаков, определяющих потенциал той или иной селекционной программы [5, 7—11, 13]. Поэтому отбор соматоклональных вариантов в условиях *in vitro* с последующей их идентификацией, включением в селекционный процесс и оценкой улучшения их полезных признаков в условиях *in vivo* позволяет получать новые сорта с более высоким агрономическим потенциалом.

Существует достаточно много работ по селекции новых сортов злаков, в ходе которых использовалась соматоклональная изменчивость в качестве источника новых признаков. Например, ранее получены соматокло-

нальные варианты пшеницы, отличающиеся высокой урожайностью [5, 10], повышенной устойчивостью к заболеваниям и более ранними сроками созревания [5]. Сомаклональная вариабельность использовалась как биотехнологический инструмент при получении новых линий риса [6], сорго [9], других представителей злаковых [11]. Ранее мы описали получение генетически стабильных сомаклональных вариантов пальчатого проса (*Eleusine coracana* (L.) Gaertn.) с последующей селекцией линий с ценными хозяйственными признаками [1].

Среди нетрадиционных для Украины злаковых культур пальчатое просо заслуживает особого внимания, поскольку является не только источником высококачественного по составу зерна, но и перспективной кормовой культурой. Этот традиционный для стран Африки и части стран Юго-Восточной Азии злак давно является объектом селекционных программ. Поэтому индукция сомаклональной вариабельности, в равной степени как и мутагенеза, путем обработки каллюсной культуры химическими мутагенами (этилметансульфонат) и гамма-радиацией уже использовались для повышения разнообразия исходного материала пальчатого проса [12]. Благодаря этому методу достигнуто увеличение кустистости новых линий, однако использование мутагенов, особенно ЭМС, приводило к заметному снижению показателей регенерации растений [12].

Для полученных нами в культуре *in vitro* спонтанных сомаклональных вариантов растений пальчатого проса проведен цитогенетический анализ, а также анализ их фенотипических характеристик с последующим отбором наиболее высокопродуктивных линий [1]. Из всех полученных регенерацией сомаклональных вариантов отобраны три наиболее перспективные для дальнейших исследований линии. Результаты изучения онтогенеза отобранных сомаклональных вариантов убедили в том, что все линии способны нормально развиваться и в полевых условиях. Цитогенетическим анализом подтверждено, что исследуемые соматклоны не отличались от исходной формы по количеству и морфологии хромосом, что свидетельствует об их генетической стабильности. При проведении полевых исследований у соматклонов наблюдали формирование генеративных побегов второго порядка, обеспечивающих более высокую степень кустистости растений [1]. В конечном итоге мы получили более низкорослые формы пальчатого проса, что является преимуществом для климатических условий Украины, поскольку их повышенная устойчивость к полеганию способна, в свою очередь, значительно сократить потери при сборе урожая.

Так как для некоторых сомаклональных вариантов характерны более высокий прирост массы и повышенная семенная продуктивность, то такие линии пальчатого проса можно считать потенциальным альтернативным растительным источником для производства биоэтанола. Поэтому целью данной работы было проведение анализа биохимических показателей отобранных сомаклональных вариантов пальчатого проса как для предварительной оценки их пищевых характеристик, так и их пригодности для получения этанола.

Методика

В работе использовали исходную линию пальчатого проса *E. coracana* сорта Тропиканка и полученные на его основе сомаклональные варианты SE-1, SE-4 и SE-7 [1]. Содержание сухого вещества, липидов, аскор-

биновой кислоты, общего сахара проводили по методике Крищенко [2], количество клетчатки и золы определяли по Починку [3], белок, каротин, БЭВ оценивали согласно методам предложенным в справочнике [4]. Биохимическую оценку проводили в трех повторностях, результаты статистически обрабатывали с помощью стандартного пакета программ Microsoft Excel.

Результаты и обсуждение

По семенной продуктивности среди отобранных линий явно выделялись два соматоклональных варианта (SE-1 и SE-7), значительно превосходящие по этому показателю исходный сорт Тропиканка [1]. Следует отметить, что с точки зрения урожайности наиболее многообещающей оказалась линия SE-7 как самая продуктивная по количеству и массе семян. Установлено также, что вариант SE-7 характеризовался более высоким показателем всхожести при низких температурах по сравнению с контролем. Для этого варианта характерно сокращение продолжительности основных фаз развития. В частности, вегетационный период (от появления всходов до сбора урожая) у него на 10—20 дней короче по сравнению с исходным вариантом. Этот показатель является ценным сельскохозяйственным признаком, поскольку дает возможность получать в течение сезона два урожая пальчатого проса: первый — в виде урожая зерна, второй — в виде зеленого корма [1].

Поскольку ранее установлено, что соматоклональная вариабельность позволяет получать новый исходный материал пальчатого проса с ценными хозяйственными признаками, были исследованы составы семян и надземной массы соматоклонов отобранных линий. Основываясь на сравнении показателей биохимического состава надземной массы и семян (таблица), легко убедиться, что по количеству питательных веществ полученные соматоклональные варианты превосходят исходную линию. По содержанию сухого вещества немного отставал вариант SE-4, между остальными линиями и контролем существенной разницы не отмечено. Однако установлено, что содержание липидов в варианте SE-4 значительно выше, чем в других вариантах и контроле. При наименьшем содержании клетчатки линия SE-1 по количеству белка и аскорбиновой кислоты в надземной массе превосходила как контроль, так и остальные линии. Содержание белка, аскорбиновой кислоты, каротина и общего сахара было большим во всех соматоклональных вариантах по сравнению с контролем.

Содержание безазотистых экстрактивных веществ (БЭВ), включающих крахмал, сахара, гемицеллюлозу и пектины, было достаточно высоким во всех образцах. По количеству золы соматоклональный вариант SE-4 превосходил все остальные, тогда как в линии SE-7 оно было в 2 раза ниже по сравнению с контролем. Содержание сахара в контрольных растениях было значительно ниже, чем в полученных соматоклональных вариантах. Например, в варианте SE-4 этот показатель в 2 раза выше.

По содержанию сухого вещества существенной разницы в семенах различных вариантов не обнаружено, однако по количеству липидов значительно выделялся соматоклональный вариант SE-4 в семенах которого липидов было в 2 раза больше, чем в контроле. По количеству белка в семенах различий между линиями SE-1 и SE-4 почти не было, у соматоклонального варианта SE-7 оно было наименьшим.

СОМАКЛОНАЛЬНАЯ ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ

Основные показатели биохимического состава надземной массы и семян соматоклональных вариантов и исходной линии пальчатого проса

Вариант	Сухое вещество, %	Липиды, %	Клетчатка, %	Белок, %	Аскорбиновая кислота, мг %	Каротин, мг %	БЭВ, %	Зола, %	Общий сахар, %
Наземная масса									
Контроль	28,8 ± 1,40	2,8 ± 0,14	36,5 ± 1,81	4,9 ± 0,24	280,1 ± 14,0	1,7 ± 0,08	49,4 ± 2,44	6,4 ± 0,31	5,4 ± 0,24
SE-1	29,1 ± 1,49	1,8 ± 0,09	34,0 ± 1,67	7,5 ± 0,36	736,0 ± 32,0	2,7 ± 0,12	53,9 ± 2,7	4,8 ± 0,24	6,2 ± 0,31
SE-4	21,7 ± 1,10	4,0 ± 0,16	39,3 ± 1,96	6,8 ± 0,34	373,4 ± 18,6	4,1 ± 0,19	42,0 ± 1,98	7,8 ± 0,38	13,5 ± 0,51
SE-7	27,4 ± 1,35	2,0 ± 0,80	38,4 ± 1,97	5,4 ± 0,25	321,9 ± 15,5	2,9 ± 0,13	50,6 ± 2,52	3,6 ± 0,18	7,9 ± 0,28
Семена									
Контроль	90,3 ± 4,40	0,63 ± 0,03	2,9 ± 0,1	10,3 ± 0,5	—	0,7 ± 0,35	83,1 ± 3,4	2,84 ± 0,12	1,6 ± 0,90
SE-1	90,9 ± 4,39	0,89 ± 0,05	3,5 ± 0,2	8,7 ± 0,3	—	0,9 ± 0,37	83,8 ± 3,1	2,99 ± 0,11	2,0 ± 0,80
SE-4	91,0 ± 4,41	1,44 ± 0,04	2,9 ± 0,1	8,6 ± 0,4	—	0,5 ± 0,32	84,4 ± 3,4	2,58 ± 0,13	2,0 ± 0,11
SE-7	91,0 ± 4,37	0,84 ± 0,04	2,7 ± 0,1	6,9 ± 0,3	—	1,0 ± 0,35	87,0 ± 3,3	2,9 ± 0,12	2,1 ± 0,10

Хотя в зеленой массе линии SE-4 содержание каротина более высокое, в ее семенах этот показатель в 2 раза ниже, чем у других соматоклональных вариантов. В семенах соматоклональных вариантов, как и в их зеленой массе, сахара больше, чем в контрольном. По результатам биохимического анализа сделан вывод, что благодаря повышенному содержанию сахара полученные соматоклональные варианты могут представлять интерес как сырье для получения биоэтанола. Согласно предварительному коммерческому расчету, выход спирта из 1 т условного крахмала у соматоклонов пальчатого проса оценен в 64,96 дал.

Таким образом, правомерно заключение, что полученные соматоклональные варианты пальчатого проса важны для сельского хозяйства не только в силу проявления более высокой по сравнению с родительской формой продуктивности. Линия SE-7 представляет интерес для дальнейшего использования в селекционном процессе, поскольку обладает рядом ценных качеств, таких как повышенная урожайность семян и зеленой массы при коротком вегетационном периоде. Данный соматоклональный вариант планируется выделить в качестве отдельного нового зернового сорта пальчатого проса. В то же время высокое содержание белка, БЭВ, сухого вещества при наименьшем количестве клетчатки дает возможность рекомендовать соматоклональный вариант SE-1 в качестве фуражной культуры, а вариант SE-4 вследствие повышенного содержания сахара — в качестве перспективной биоэнергетической культуры.

Работа выполнена при частичной поддержке проекта № 6/П-19-07 (2007—2009 гг.) целевой комплексной программы НАН Украины «Биомасса как сырье для биотоплива».

1. Баер Г.Я., Емец А.И., Стадничук Н.А. и др. Соматоклональная вариабельность как источник для создания новых сортов пальчатого проса *Eleusine coracana* (L.) Gaertn. // Цитология и генетика. — 2007. — 41, № 4. — С. 9—14.
2. Крищенко В.П. Методы оценки качества растительной продукции. — М.: Колос, 1983. — 192 с.
3. Починок Х.Н. Методы биохимического анализа растений. — Киев: Наук. думка, 1976. — 334 с.
4. Разумов В.А. Справочник лаборанта-химика по анализу кормов. — М.: Россельхозиздат, 1986. — 304 с.
5. 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.
6. Bertin P., Kinet J.-M., Bouharmont J. Heritable chilling tolerance improvement in rice through somaclonal variation and cell line selection // Aust. J. Bot. — 1995. — 44. — P. 91—105.
7. 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.
8. Carver B.F., Jonson B.B. Partitioning of variation derived from tissue culture of winter wheat // Theor. Appl. Genet. — 1989. — 78. — P. 405—410.
9. Maralappanavar M.S., Kuruvinashetti M.S., Hari C.C. Regeneration, establishment and evaluation of somaclones in *Sorghum bicolor* (L.) Moench. // Euphytica. — 2000. — 115. — P. 173—180.
10. 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.
11. 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.
12. Pius J., Eapen S., George L., Rao P.S. Evaluation of somaclonal and mutagen induced variation in finger millet // Ibid. — 1994. — 112. — P. 239—243.
13. 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.

Получено 21.08.2008

СОМАКЛОНАЛЬНА ВАРИАБЕЛЬНІСТЬ У КУЛЬТУРИ IN VITRO ЯК ДЖЕРЕЛО
ОТРИМАННЯ СЕЛЕКЦІЙНОГО МАТЕРІАЛУ ПАЛЬЧАСТОГО ПРОСА *ELEUSINE*
CORACANA (L.) GAERTN.

Г.Я. Баєр,¹ Д.Б. Рахметов,² Н.О. Стаднічук,² А.І. Ємець,¹ Я.Б. Блюм¹

¹Інститут клітинної біології та генетичної інженерії Національної академії наук
України, Київ

²Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка Національної академії наук
України, Київ

Представлено дані щодо використання культури in vitro для отримання соматоклональних варіантів пальчастого проса (*Eleusine coracana*), які можна розглядати як вихідний селекційний матеріал для наступного створення нових сортів цього злаку. Серед досліджених варіантів виділено три найперспективніші лінії. На основі результатів біохімічного аналізу встановлено, що лінія SE-1 містить велику кількість білка, безазотистих екстрактивних речовин, сухої речовини за найменшої кількості клітковини, соматоклон SE-4 характеризується як біоенергетична культура завдяки підвищеному вмісту цукру. Лінія SE-7 цікава для селекціонерів, оскільки має підвищену врожайність насіння і зеленої маси, прискорено проходить основні фази розвитку. Отримані результати досліджень дають підставу розглядати соматоклональну варіабельність як інструмент для створення нових сортів.

SOMACLONAL VARIABILITY IN VITRO CULTURE AS SOURCE FOR OBTAINING
OF MATERIAL FOR SELECTION OF FINGER MILLET *ELEUSINE CORACANA* (L.)
GAERTN.

G.Ya. Bayer,¹ D.B. Rakhmetov,² N.A. Stadnichuk,² A.I. Yemets,¹ Ya.B. Blume¹

¹Institute of Cell Biology and Genetic Engineering, National Academy of Sciences of Ukraine
148 Acad. Zabolotny St., Kyiv, 03143, Ukraine

²M.M. Grishko National Botanical Garden, National Academy of Sciences of Ukraine
1 Timiryazevska St., Kyiv, 01014, Ukraine

Data of in vitro culture application for *Eleusine coracana* somaclonal variants production that can be used as the material for the subsequent selection of new cultivars of this cereal have been presented. Three the most perspective lines were selected among examined variants. Biochemical analysis suggested that line SE-1 has high protein content, nitrogenic free extractive substances, dry matter content with low cellulose content. Somaclon SE-4 is considered as bio-energetic culture for bioethanol production due to high sugar content. Line SE-7 is interesting for breeders because it demonstrated high seed and green mass yield as well as acceleration of basic growth stages passion. Obtained results allow to consider the somaclonal variability as a tool for new varieties productions.

Key words: *Eleusine coracana* (L.) Gaertn., finger millet, somaclonal variability, selection, plant productivity.