

УДК 575.113:575.015.

3:633.11

© 2010

*М.А. Литвиненко,  
академік УААН**Селекційно-генетичний  
інститут — Національний  
центр насінництва  
та сортовивчення*

## **БІОТЕХНОЛОГІЧНІ МЕТОДИ У СЕЛЕКЦІЇ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ КУЛЬТУР**

**Висвітлено проблеми розвитку біотехнологічних досліджень і завдання використання молекулярно-генетичних розробок у селекції сільськогосподарських культур.**

Терміном «біотехнологія» в широкому розумінні визначають сукупність методів для виробництва нових видів продукції з використанням різних біологічних об'єктів. Традиційна селекція сільськогосподарських культур є також біотехнологічним процесом на основі існуючих методів створення генетичного різноманіття, оцінки та добору бажаних генотипів. Через недосконалість цих методів створення нового сорту самоzapильних культур триває 6—10 років і більше й базується в основному на комбінації генів, які ідентифіковані в колекційних і селекційних зразках.

При використанні внутрішньовидової і віддаленої гібридизації найскладніші обмежуючі проблеми в селекції рослин: передача бажаних генів з небажаними; введення одного цінного гена супроводжується втратою другого; щеплення генів ускладнює можливості відокремлення позитивних ознак від шкідливих. Тому основним завданням для селекціонера є поєднання в одному генотипі якомога більшої кількості цінних ознак і властивостей.

У пошуку сортоутворюючих рекомбінантів селекціонер вивчає матеріал у великих обсягах (десять тисяч номерів), досягаючи гомозиготності (однорідності) багаторазовим пересівом гібридів, створюючи відповідні фони добору. Керування спадковістю та добір за генотипом здійснюються у вузьких межах, а індукція нових генів з допомогою фізичних і хімічних мутагенних факторів взагалі є некерованим процесом. Більшість експериментальних мутацій є наслідком складних хромосомних перебудов, які призводять до зниження життєздатності рослин і їхньої генетичної стабільності. Надзвичайно рідко виникають позитивні мутації. Як правило, вони супроводжуються плейотропними ефектами негативних спадкових змін. Розірвати цей зв'язок надзвичайно складно.

Проте за допомогою сучасної біотехнології багато з цих питань вже вирішують. Сучасна біотехнологія базується на методах генної (генетичної) інженерії, які дають змогу передавати один або кілька генів від одного генотипу до другого, причому донор і реципієнт не обов'яз-

ково мають бути одного виду чи токсона. Це різко збільшує різноманіття за певними ознаками, прискорює процес отримання рослин із заданими властивостями, а також, що особливо важливо, забезпечує можливість відстежувати генетичні зміни і їх наслідки.

У міжнародному плані біотехнологічні дослідження належать до пріоритетних галузей біологічної та сільськогосподарської науки. У розвинутих країнах і провідних фірмах для ведення цих досліджень створені спеціалізовані біотехнологічні центри, на їх роботу витрачаються величезні кошти і вже отримано значні результати. В Україні, в системі наукових установ УААН організовано на базі лабораторій генної інженерії Селекційно-генетичного інституту (м. Одеса), як самостійну установу — Південний біотехнологічний центр у рослинництві (ПБЦР). Крім наукової роботи, Центр здійснює координацію всіх досліджень молекулярно-генетичного спрямування на сільськогосподарських рослинах у наукових установах УААН.

**Основна частина.** Найперспективнішим напрямом, який бурхливо розвивається у багатьох відомих наукових установах і фірмах світу, є розробка біотехнологій з отримання генетично модифікованих рослин (ГМ-рослин). Доступна інформація свідчить, що ці технології дають змогу створювати сорти і гібриди сільськогосподарських культур із принципово новими спадковими ознаками, які кардинально змінюють господарсько-біологічний потенціал культур. У поєднанні зі спеціально розробленими технологіями вирощування це забезпечує значне підвищення продуктивності, якості продукції та стійкості проти факторів доквілля. До цього часу у світі створені і доведені до випробувань у польових умовах ГМ форми сільськогосподарських рослин понад 50 видів. Так, отримані трансгенні форми томатів (>260), сої (>200), бавовнику (>150), гарбузових (>80), тютюну (>80), а також пшениці, рису, соняшнику, огірків, салату, яблунь та інших фруктових дерев (>70). Великомасштабне промислове виробництво ГМ-рослин почалося у 1996 р. На той час у всьому світі трансгенними культурами було за-

сіяно 1,7 млн га. За період з 1996 по 2008 р. площі, зайняті трансгенами, збільшились у 65 разів і становлять 110 млн га.

Країни і фірми, які успішно реалізують програми біотехнологічних досліджень з отримання ГМ-сортів (гібридів) сільськогосподарських культур, стають лідерами у виробництві окремих видів продукції: кукурудзи, сої, бавовнику, картоплі та ін. Основні країни, в яких під посіви біотехнологічних культур було відведено найбільші площі, млн га: США (49,8); Аргентина (17,1); Бразилія (9,4); Канада (5,8); Китай (3,3); Парагвай (1,8); Індія (1,3); Південна Африка (0,5). У світових, скільки-небудь значущих, наукових виданнях та міжнародних симпозіумах, у переважній більшості робіт біологічного напрямку подається інформація з молекулярної біології та біотехнології. Абсолютно очевидно, що країни, які не займаються розробкою цих напрямів, поступово відставатимуть і врешті-решт залишаться за порогом світової цивілізації.

На жаль, в Україні крім розмов і дискусій: займатись чи ні дослідженнями з розробки біотехнології з отримання ГМ-рослин діло далі не йде. Мало ймовірно, що будуть успішними також спроби використати ГМ-конструкції, створені зарубіжними фірмами, адже вони створюються з певним рівнем адаптації до конкретних умов вирощування культур. Індукція ГМ-конструкцій із заданими цінними ознаками і введення їх у місцевий генофонд сільськогосподарських культур є винятково актуальним завданням біотехнологічних досліджень в Україні. У розвитку цього напрямку найбільш зацікавлені вітчизняні селекціонери. Адже по кожній культурі, за якою ведеться селекційна робота в країні, найбільш важливою щороку зростаючою проблемою є створення оригінальних генетичних джерел господарсько і біологічно цінних ознак. У той час, коли відбуваються дискусії про медичні наслідки використання сільськогосподарської продукції з ГМ-сортів, за відсутності законодавчої бази насіння трансгенних сортів сої, кукурудзи, картоплі нелегально потрапляє на ринок України і безконтрольно розповсюджується у виробництві.

Дослідження з розробки біотехнології отримання ГМ-рослин є затратні, потребують спеціального обладнання і підготовки фахівців. Це і є тією основною проблемою, яка стримує розвиток цього напрямку біотехнологічних досліджень. У це важко повірити навіть з поверхневого огляду використання бюджетних коштів у країні. При створенні і відповідному законодавчому затвердженні програми досліджень у галузі розробки сільськогосподарських біотехнологій України під силу забезпечити хоча б один ПБЦР усім необхідним для продуктивної роботи.

Не можна погодитись з думкою, яка інколи

висловлюється на рівні дискусій, що треба перерозподілити ті невеликі бюджетні кошти, які виділяються на селекцію сільськогосподарських культур, і спрямувати їх на біотехнологічні дослідження. На жаль, за відсутності чітких механізмів реалізації вітчизняного законодавства з охорони прав на сорти рослин на цьому етапі селекція сільськогосподарських культур в Україні не може розвиватись на самофінансуванні. Припинення бюджетного фінансування селекційних досліджень призведе до їх призупинення, а в ряді випадків й повної руйнації. Недопустима втрата країною провідних світових позицій у селекції пшениці озимої, ячменю озимого і ярого та ін. Результат не важко передбачити — експансія зарубіжних сортів. Та й неймовірно, що вивільнення таким чином коштів буде достатнім для ефективного ведення біотехнологічних досліджень. Тому країна втрачає підготовлених молодих фахівців, які б могли займатись біотехнологічними дослідженнями, а вони виїждять за кордон і успішно працюють у провідних наукових установах США, Канади, Франції, Англії та ін.

Із того фінансування, яке виділяється на біотехнологічні дослідження в рослинництві в системі УААН, нині є доступними і найбільш ефективними роботи з використання молекулярних маркерів у селекції. Адже сучасні світові селекційно-генетичні дослідження — це в основному пошук молекулярних маркерів цінних ознак. ПБЦР за рівнем забезпечення обладнанням, освоєнням сучасних методик, підготовкою фахівців може ефективно виконувати такого напрямку дослідження. В цьому Центрі спільно із науковцями Селекційно-генетичного інституту — НЦНС здійснено ряд досліджень з маркування генів типу розвитку — *Vrn*, потреби в яровизації — *Vrd*, фотоперіодичної чутливості — *Prp* та інших важливих генетичних систем у озимої м'якої і твердої пшениць, ячменю, кукурудзи та інших культур.

Для проведення таких досліджень потрібно насамперед чітко визначитись з вибором тих ознак, які селекціонер не в змозі контролювати традиційними і відносно дешевими методами. Крім цього, для розробки молекулярних маркерів цих ознак повинні передувати великі багаторічні генетичні дослідження традиційними методами гібридологічного чи цитологічного аналізу та створення для цього спеціального матеріалу ізогенних, абсолютно гомозиготних дигапloidів чи гібридно-інбредних ліній, які відрізняються за певними ознаками. Слід також мати на увазі, що молекулярні маркери працюють тільки на окремих генетичних пулах.

Проте під час їх відпрацювання селекціонеру відкривається можливість науково обґрунтовано підбирати батьківські форми для гібриди-

зації, комбінувати цінні ознаки і властивості з позитивним генетичним ефектом збільшення їх експресії, вести ефективно добір бажаних генотипів, зменшуючи до певного розрахунково оптимального обсягу опрацювання селекційного матеріалу, цілеспрямовано збагачувати цінними генами гібридні популяції і т.д. Тобто ця робота має комплексний характер і може виконуватись за участі селекціонерів, класичних генетиків та спеціалістів з молекулярної генетики.

Цей підхід більш-менш ефективно реалізувався в Селекційно-генетичному інституті, у той час нинішній ПБЦР ще був у його складі як лабораторія генної інженерії. Наукові підрозділи СГІ — НЦНС створювали вихідний генетичний матеріал і надавали його лабораторії генної інженерії, де за допомогою відпрацьованих методів молекулярної генетики проводили дослідження. Отримані результати були спільними для використання у вигляді публікацій чи в селекційній роботі. Фінансування цих робіт здійснювалось УААН за програмами інституту.

Виділення ПБЦР у самостійну наукову установу підсилює концентрацію і координацію робіт з молекулярної генетики в рослинництві, але дещо ускладнило комплексність досліджень. Ніби нічого і не змінилось: як і раніше ПБЦР свої дослідження здійснює переважно на генетичному матеріалі СГІ — НЦНС, але за відсутності достатнього бюджетного фінансування часто виникає проблема додаткової оплати виконання молекулярно-генетичних досліджень.

Слід застерегти, що використання молекулярних маркерів ні в якому разі не замінює традиційних методів селекції, а тільки доповнює селекційний процес наукомісткими методами контролю генотипів за певними ознаками. Через високу вартість молекулярно-генетичних методів їх неможливо впроваджувати на весь великий обсяг селекційного матеріалу. Тому заяви, що молекулярні методи здатні в сотні разів скоротити обсяги селекційної роботи і одночасно підвищити її ефективність, свідчать про некомпетентність.

Окремо виникає питання з приводу доцільності ведення робіт з паспортизації сортів, ліній, генетичного і селекційного матеріалу методами молекулярної генетики. Декілька років поспіль питання використання цих методів у системі ідентифікації сортів обговорювали в міжнародній Європейській організації із захисту прав на сорти рослин (UPOV). Дотепер позитивного рішення з цього питання не прийнято. Основні аргументи — висока вартість аналізів, не всі члени UPOV їх можуть виконувати, а також наявність достатньої кількості вже прийнятих морфологічних ознак і біохімічних

маркерів для встановлення основних принципів захисту прав на селекційні досягнення — однорідність, відмінність, стабільність.

Тому потреба паспортизації сортів існує на державному рівні під керівництвом Державної служби з охорони прав на сорти рослин. Правда, треба досягти того, щоб сорти, які заносяться до державного Реєстру, відповідали вимогам однорідності. Оскільки більша частина сортів самозапилюваних культур є гетерогенними, тобто складаються з двох і більше біотипів, то паспортизація за допомогою молекулярних формул стає проблематичною.

Водночас необхідність її проведення стає все більш актуальним завданням, насамперед щодо виконання законів «Захист прав на сорти рослин» і «Про насіння і садивний матеріал». На вітчизняному ринку сортів і насіння виявлено велику кількість порушників цих законів. Найвагоміший доказовий аргумент, який може захистити інтелектуальну власність на сорти рослин, — визначення генетичної формули генотипів за допомогою методів молекулярної генетики, тобто паспортизація сортів самозапилюваних культур і батьківських ліній гібридів перехреснозапилюваних культур.

Упровадження паспортизації сортів стримується також невизначеністю фінансування цих досліджень. Вітчизняні приватні селекційні установи, безумовно, виконуватимуть вимоги Держслужби й оплатять молекулярно-генетичну ідентифікацію сортів (ліній), але невідомо як поставляться до цього зарубіжні фірми, які керуються у своїй діяльності вимогами UPOV. Паспортизацію сортів державних наукових установ було б доцільним профінансувати за рахунок спеціальних бюджетних коштів.

У вітчизняних селекційних установах паспортизації на рівні ДНК-технологій повинні підлягати, крім комерційних сортів, також експериментально створені генотипи з винятково оригінальними ознаками, які мають високу наукову чи комерційну цінність. Результати паспортизації можуть скласти державну базу даних генотипу сільськогосподарських культур, яка слугуватиме для розв'язання наукових, правових, господарських завдань і проблем судової експертизи.

Заслугове на увагу, з точки зору використання в селекції, ще один напрям біотехнологічних досліджень — отримання генетичних регенерацій в культурі *in vitro* пиляків, клітин, зародків та індукцій гаплоїдів і дигаплоїдів. Світовий досвід досліджень із зерновими культурами визначив найефективніші з них: культура зародків переважно за інтрогресивної селекції, для отримання життєздатних гібридів від віддалених схрещувань — отримання первинних тритикале та індукція соматональних ва-

ріантів; суспензійна культура і створення селективних середовищ для добору на рівні клітин за ознаками стійкості до окремих токсинів збудників фітозахворювань; гаплопродукція і отримання дигаплоїдів з метою швидкої гомозиготизації та прискорення селекційного процесу.

За кожним із цих напрямів отримано певні практичні результати в багатьох наукових установах України і за кордоном. Найбільші досягнення отримано там, де розроблені біотехнологічні методики теоретичних лабораторій перенесено на потік масового використання в селекційній підрозділі. Для цього створюються групи фахівців-біотехнологів, які добре володіють методиками, працюють безпосередньо з селекційним матеріалом на чолі з керівником програми. Наприклад, в Інституті с.-г. досліджень Угорської Академії наук (м. Мартонвашар) така група спеціалістів у відділі селекції пшениці уже багато років поспіль напрацьовує селекційний матеріал методами індукції андрогенних дигаплоїдів у культурі пиляків у такій самій кількості (2,5—3 тис. дигаплоїдів щороку), як і традиційними методами. Результативність селекції з використанням біотехнологічних методів при цьому в 1,5 раза вище, ніж за традиційної селекції, а створення нового сорту в часі скорочується з 8—10 до 5—6 років.

Наш досвід співпраці, у свій час, ще з лабораторією біотехнології СГІ з використанням тотипотентності мікроспор у культурі пиляків для отримання дигаплоїдів пшениці озимої м'якої дав позитивний результат. Було ідентифіковано генотипи пшениці з підвищеною здатністю до гаплопродукції і на їх основі щороку на культурі пиляків із гібридів  $F_1$  індукувалось 250—300 дигаплоїдів (С.О. Ігнатова, М.А. Литвиненко). Навіть за цих невеликих обсягів отримання дигаплоїдів напрацьовано цінний вихідний матеріал для селекції з адаптованою екзотич-

ною геноплазмою. З використанням ліній дигаплоїдного походження (еритроспермум 1083 та еритроспермум 2783) у гібридизації з місцевими сортами створено і занесено до Державного реєстру сорт озимої м'якої пшениці Знахідка одеська з унікальним поєднанням ультраскоростиглості, високої продуктивності та зимостійкості; сорт Сирена одеська, який з генетичним потенціалом урожайності вище 100 ц/га вирізняється витривалістю до низьких агрофонів та особливо дефіциту фосфору в ґрунті (фосфороефективний сорт); сорт Зорянка одеська, який не був занесений до Реєстру, але став батьківською формою в гібридизації при створенні сортів Заграва одеська, Заможність одеська. Позитивний практичний результат у селекції ячменю ярого з використанням біотехнологічних методів досягнуто в Інституті рослинництва імені В.Я. Юр'єва.

Водночас потрібно реально оцінювати можливість методів культури *in vitro* і доцільність їх використання як додаткових до традиційних методів для розв'язання певних завдань:

- для прискорення адаптації нових генів у місцевому генофонді, генів, які контролюють цінні ознаки від віддалених схрещувань, екзотичної геноплазми. Селекційний процес при цьому скорочується завдяки швидкій гомозиготизації матеріалу майже удвічі;
- для підвищення ефективності добору на селективних середовищах, як-то на стійкість до токсинів фузаріозних і гелмінтоспоріозних грибів.

Ці роботи можна було б розвивати у межах комплексної біотехнологічної програми, але матеріальні та фінансові можливості, які має нині ПБЦР, не дають змоги отримувати скільки-небудь раціональний обсяг дигаплоїдів для подальшої селекційної роботи. Тому вона практично припинилась.

## Висновки

*Дослідження з молекулярної генетики, розробки біотехнологічних методів необхідно розвивати з чіткою спрямованістю на розв'язання конкретних наукових і практичних завдань у селекції рослин.*

*Розроблені в ПБЦР ефективні методи ДНК-технологій, культури *in vitro* мають достатньо високий рівень, щоб при відповідному фінансовому забезпеченні бути впровадженими в селекційну насінницьку практику, а також використаними для паспортизації генофонду сільськогосподарських культур.*

*Організація і забезпечення в Україні досліджень з розробки біотехнологічних методів отримання генетично модифікованих рослин є винятково необхідною умовою запобігання науковій відсталості країни в подальшому генетичному удосконаленні сільськогосподарських культур.*

*Потрібні кардинальні зміни в плануванні, фінансуванні та проведенні досліджень з розробки новітніх біотехнологій у рослинництві на основі державної законодавчо затвердженої комплексної наукової програми.*