

Висновки. Результати проведених нами цитологічних досліджень визначено форми поділу при удосконаленні режимів культивування суспензійних клітин і регенерації із них рослин, а також у клітинній селекції.

Список використаних літературних джерел

1. Бутенко Р. Г. Клеточные технологии для получения экономически важных веществ растительного происхождения // Культура клеток растений и биотехнология. – М., 1986. – С. 3-20.
2. Долежел Й., Новак Ф. И. Кариологические изменения в ходе дифференцировке клеток чеснока (*Allium sativum* D.) // Культура клеток растений и биотехнология. – М., 1986. – С. 3-25.
3. Мезинцев А. В., Любавина Л. А., Карелина Н. А. Культура клеток в селекции клевера и люцерны // Доклады ВАСХНИЛ. – 1982. – №7. – С. 7-10.
4. Савченко Е. В., Кунах В.А. Сравнительная характеристика культуры тканей двух родственных линий кукурузы, различающихся по количеству гетерохроматина // Культура клеток растений и биотехнология. – М., 1986. – С. 214-218.
5. Ярмолюк Г. И., Ильенко И. И., Бех Н. С., Белоус В. Е. Динамика роста суспензионной культуры клеток сахарной свеклы // Биотехнологические методы в селекции сахарной свеклы. – М.: Агропромиздат, 1989. – С. 58-63.
6. De Greef W., Jacobs M. In vitro culture of the Sugar beet: description of a zell line with hick regeneration capacity // Plant Science Lett. – 1979. –17. – P. 55-61.

Аннотація

Бех Н. С., Войтовская В. И., Недяк Т. Н.

Суспензионная культура клеток сахарной свеклы

Созданы условия получения суспензивной культуры клеток сахарной свеклы со стабильной скоростью роста. Разработана питательная среда, на которой индуцирован эмбриогенез и органогенез с клеток суспензии, определены особенности их прохождения.

Ключевые слова: культура клеток, сахарная свекла, суспензия

Annotation

Bech N., Voytovska V., Nedyak T.

Suspension culture cells of Sugar beets

The conditions obtaining suspension cell culture of sugar beet with a stable growth rate. Designed nutritious medium, which is induced embryogenesis and organogenesis from suspension cells, identified features of their passing.

Keywords: culture cells, sugar beet, suspension

УДК: 633.63:631.527

С.М. БРОВКО, завідувач сектору генетичних ресурсів рослин
Інститут біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН України

УСПАДКУВАННЯ ОЗНАКИ СТІЙКОСТІ ДО ГЛЮФОСИНАТУ АМОНІЮ ПРИ СТВОРЕННІ ПІЛКОСТЕРИЛЬНИХ МАТЕРИНСЬКИХ КОМПОНЕНТІВ ЦЧС ГІБРИДІВ ЦУКРОВИХ БУРЯКІВ

Наведено результати досліджень з характеру успадкування ознаки стійкості до глюфосинату амонію при створенні ліній цукрових буряків на ЦЧС основі та проаналізовано розщеплення після самозапилення у вихідних трансгенних лініях O-типу та в їх гібридних ЦЧС потомствах. Встановлено, що трансгенна ознака успадковувалась як домінантна моногенна за менделівським типом.

Ключові слова: трансгенні цукрові буряки, лінії O-типу, цитоплазматична чоловіча стерильність(ЦЧС), глюфосинат амонію.

Вступ. Відкриття та вивчення успадкування явища ЦЧС (цитоплазматичної чоловічої стерильності) у цукрових буряків дало змогу значно розширити можливості практичного використання явища гетерозису. На даний час у виробництві культивують гібриди цукрових буряків, де материнським компонентом слугують рослини із ЦЧС. Використання материнського компоненту із стерильним пилком дає змогу отримувати 100% гібридне потомство. Розмноження материнського компоненту та створення нових ЦЧС ліній здійснюють за допомогою запилювача закріплювача стерильності Оуенівського типу (О-типу). Створення нових О-типів дозволяє розширити генетичний потенціал вітчизняної селекції шляхом створення відповідних ЦЧС аналогів О-типів [1].

Наприкінці ХХ ст. досягнення у сфері біотехнології та розробка методів генетичної інженерії рослин значно розширили можливості для селекціонерів у створенні нового вихідного матеріалу для селекції.

На сьогоднішній день технології генетичної інженерії дозволяють клонувати гени із будь-яких організмів і вводити їх у генетичний апарат інших видів рослин [2, 3]. Процес такого введення і передачі генів назвали *трансгенозом*, а тварини чи рослини, що містять трансгени у геномі своїх клітин, назвали *трансгенними* [4]. Найбільш широкого використання у сільському господарстві отримали трансгенні рослини, які мають стійкість до гербіцидів суцільної дії та стійкість до шкідливих комах. Дотепер фірмами Monsanto та Novartis запатентовано трансгенні лінії цукрових буряків GTSB 77 та H7-1 стійкі до гербіцидів суцільної дії на основі гліфосатів, та лінія T120-7 фірми AgrEvo толерантна до гербіцидів суцільної дії на основі глюфосинату амонію [5].

Практичне використання трансгенних рослин у селекційному процесі потребує детального вивчення успадкування та можливості передачі трансгенної ознаки у вітчизняні селекційні матеріали. Метою нашої роботи було вивчення типу успадкування та стабільності експресії трансгенної ознаки.

Матеріали та методика досліджень. Для досліджень з вивчення типу успадкування стійкості до глюфосинату амонію було залучено 6 трансгенних ліній закріплювачів стерильності О-типу (0164657/1, 0164957/1, 0164958/1, 0164962/1, 0164972/1, 0164975/1), які мали стійкість до гербіциду суцільної дії Basta[®] та 5 нетрансгенних ЦЧС ліній (02012/1; 02001/1; 02329/1; 2005-1-1; 8/2), які є материнськими компонентами комерційних гібридів, що знаходяться у виробництві.

Аналізуючі схрещування проводили на ділянці гібридизації, розміщуючи рослини для перезапилення під індивідуальні ізолятори. У центрі групи висаджували рослину О-типу, а навколо неї розміщували рослини із ЦЧС - по одній з кожного селекційного зразка. Перед цвітінням у ЦЧС рослин визначали тип стерильності. Напівстерильні та фертильні рослини видаляли. Після визначення типу стерильності кожній рослині у групі присвоювали індивідуальний номер. Після зав'язування насіння ізолятор знімали, залишаючи насінники для дозрівання. Дозріле насіння збирали окремо із кожного насінника. Насіння О-типу було отримано від самозапилення кожного із номерів, а гібридне насіння із ЦЧС форм, отримане від схрещування ЦЧС ліній з неспорідненим О-типом, було простим стерильним гібридом.

Для аналізу типу успадкування, насіння отриманих гібридних потомств висівали окремими рядками, з яких кожен десятий рядок був контрольним (нетрансгенним) номером. Ділянки із досліджуваними номерами було оброблено розчином гербіциду Basta[®] 20%, в.р. із розрахунковою нормою витрати препарату 3 л/га. Обробку вегетуючих рослин цукрових буряків гербіцидом проводили у фазу двох пар справжніх листків за допомогою ранцевого обприскувача Ера-1.

Стійкість до глюфосинату амонію у гібридних потомствах визначали шляхом підрахунку різниці між початковою та кінцевою кількістю рослин на 30 день після обробки, вираженою у відсотках.

Результати досліджень. Перші ознаки ураження рослин гербіцидом на нетрансгенному контролі було відмічено вже через 5 годин після обробки. Листки на рослинах поступово втрачали блиск та починали зморщуватися. На 4-5 день рослини

жовтіли, а на листках з'являлися некротичні плями. На 10-11 день після обробки рослини контрольного номеру повністю загинули. Аналогічний прояв ураження спостерігали і у нестійких рослин досліджуваних номерів.

Аналіз розщеплення у потомстві простих стерильних гібридів показав, що кількість стійких рослин була різною, і коливалась залежно від потомства. У потомствах від схрещування ЦЧС ліній 2001/1, і 02329/1 з усіма досліджуваними О-типами спостерігали від 40 до 63 % стійких рослин (табл.).

Таблиця

Успадкування ознаки стійкості до глюфосинату амонію простими стерильними гібридами, 2004 р.

О-тип ЦЧС	0164657/1	0164957/1	0164958/1	0164962/1	0164972/1	0164975/1
2012/1	$\frac{76}{14,5}$	$\frac{55}{1,75}$	$\frac{50}{0,01}$	$\frac{53}{0,60}$	$\frac{63}{14,10}$	$\frac{47}{0,40}$
2001/1	$\frac{63}{3,5}$	$\frac{58}{1,50}$	$\frac{47}{0,20}$	$\frac{55}{1,00}$	$\frac{60}{0,09}$	$\frac{54}{0,65}$
02329/1	$\frac{60}{0,64}$	$\frac{58}{0,66}$	$\frac{40}{1,60}$	$\frac{58}{3,66}$	$\frac{44}{1,64}$	$\frac{54}{0,80}$
2005-1-1	$\frac{60}{3,12}$	$\frac{47}{0,29}$	$\frac{63}{11,30}$	$\frac{57}{3,29}$	$\frac{47}{0,67}$	$\frac{52}{0,18}$
8/2	$\frac{77}{16,90}$	$\frac{70}{1,60}$	$\frac{41}{2,84}$	$\frac{64}{8,38}$	$\frac{52}{0,24}$	$\frac{50}{0,01}$

Примітки:

1. * – у чисельнику % стійких рослин

2. ** – у знаменнику значення χ^2 , теоретичне $\chi^2_{05} = 3,84$; $\chi^2_{01} = 6,63$

При цьому співвідношення стійких і нестійких рослин відповідало теоретичному розщепленню 1:1 ($\chi^2_{\text{факт}}$ коливався у межах від 0,09 до 3,66 і був нижчим від $\chi^2_{05} = 3,84$). Це свідчить про те, що О-типи, залучені у досліді, були гетерозиготними за ознакою стійкості, а трансгенна ознака успадковувалась простими стерильними гібридами.

У результаті аналізу потомств від самозапилення О-типів виявилось, що найбільша кількість стійких рослин (88 %) була у номера 0164657/1, а найменша – 69 % була в потомстві від самозапилення О-типу під номером 0164975/1. У решти номерів О-типу вона варіювала від 74 до 77 % (рис.).



Рис. Розщеплення за ознакою стійкості до глюфосинату амонію при самозапиленні О-типів, 2004 р.

Відмічено, що гібриди на основі ліній О-типу 0164657/1 з ЦЧС лініями 2012/1 і 8/2, а також прості стерильні гібриди 2005/1-1/0164958/1, 8/2/0164962/1, 2012/1/0164972/1 характеризувалися більшою кількістю стійких рослин (63 до 77 %), ніж це відповідало теоретичному розщепленню, що вказує на більш стабільний прояв трансгена у закріплювача стерильності.

Отримане розщеплення 3:1 дозволяє припустити, що ген який детермінує ознаку стійкості у вихідних трансгенних О-типах знаходиться у гетерозиготному стані. Встановлена відповідність фактично отриманого розщеплення теоретично очікуваному ($\chi^2_{\text{факт}}$ коливався у межах 0,01 до 0,19 при теоретичному $\chi^2_{05}=3,84$).

Висновки. За результатами досліджень встановлено, що ознака стійкості до глюфосинату амонію від рослин О-типів цукрових буряків, передається стерильним лініям шляхом гібридизації незалежно від їхнього походження. Вона контролюється домінантним геном і успадковується за менделівським типом як моногенна.

Список використаних літературних джерел.

1. Балков И.Я. Селекция сахарной свеклы на гетерозис / И.Я. Балков – М.: Россельхозиздат, 1978. – 167 с.
2. Poulsen G.B. Genetic transformation of Brassica / G.B. Poulsen // Plant Breeding. – 1996. – Vol. 115. – P. 209–225
3. Repellin A. Genetic enrichment cereal crops via alien gene transfer: new challenges / Repellin A., Vaga M., Jauhar P., Chibbar R. // Plant Cell Tissue and Organ Culture. – 2001. – Vol. 64. – P. 159–183.
4. Патрушев Л. И. Экспрессия генов / Л. И. Петрушев. – М.: Наука, 2000. – 830 с
5. Сорочинський Б. В. Біотехнологічні (Генетично модифіковані) рослини / Сорочинський Б. В., Данильченко О.О., Кріпка Г.В. Видання друге, доповнене. – К.: КВІЦ, 2007. – 220 с.

Аннотація

Бровко С.Н.

Наследование признака устойчивости к глюфосинату аммония при создании пыльцестерильных материнских компонентов ЦМС гибридов сахарной свеклы.

Приведены результаты исследований по характеру наследования признака устойчивости к глюфосинату аммония при создании линий сахарной свеклы на ЦМС основе и проанализировано расщепление после самоопыления у исходных трансгенных линиях О-типа и их ЦМС гибридных потомств. Установлено, что трансгенный признак наследовался как доминантный моногенный по менделевскому типу.

Ключевые слова: трансгенная сахарная свекла, линии О-типа, цитоплазматическая мужская стерильность (ЦМС), глюфосинат аммония.

Annotation

Brovko S.

Inheritance of sign of stability to glufosinate ammonium at creation pollen sterile maternal components of CMS hybrids of sugar beet

The issue highlights the results of studies on the nature of inheritance of resistance sign to glufosinate ammonium when creating lines of sugar beet in CMS basis and analyses splitting after self-pollination in the original transgenic lines of O-type and their CMS hybrid genitures. It is found that transgenic feature inherited as monogenic dominant for Mendelian type.

Keywords: transgenic sugar beets, line O-type, cytoplasmic male sterility (CMS), glufosinate ammonium.