

**Лещук Н.В.**,

кандидат сільськогосподарських наук,

**Шаюк Л.В.**,

кандидат біологічних наук,

**Майстер Н.В.**

Український інститут експертизи сортів рослин

## Основні напрями трансгенезу в овоцівництві та баштанництві: теорія та практика

*Висвітлено пріоритетні напрями селекції овочевих та баштанних рослин. Обґрунтовано широке різноманіття методів переносу чужорідної генетичної інформації за створення трансгенних рослин овочевих і баштанних видів. Розкрито суть методів ідентифікації нових гібридів як продуктів генної інженерії: роду капусти, помідора їстівного, моркви, кабачка, салату посівного, гороху посівного, квасолі звичайної, баклажана та перцю однорічного. Наведено головні напрями трансгенезу сортів ботанічних таксонів овочевих і баштанних рослин у міжнародній та вітчизняній практиці. Вивчено міжнародну практику державної апробації та реєстрації генетично модифікованих конструкцій у біологічних об'єктах (сорта рослин) та в продуктах їхньої переробки. Проведено моніторинг продуктів харчування і фармакологічних речовин, створених на основі генетично модифікованих конструкцій сортів і гібридів групи овочевих і баштанних рослин.*

### Ключові слова:

методи трансформації генної інформації, ГМО, напрями трансгенезу овочевих рослин.

**Вступ.** Сучасному періоду науково-технічного прогресу характерні швидкі темпи розвитку новітніх технологій, до яких належить і генна інженерія. У розвинених країнах Європи, США, Ізраїлю, Японії, Китаю та Південної Кореї дана галузь є пріоритетним напрямом діяльності у науковій і виробничій сферах біотехнології [1]. У всіх програмних документах стратегічного характеру, що приймаються останніми роками ООН, ЄС, урядами окремих країн, передбачені положення проблем дослідження генетично модифікованих організмів та їхнього практичного застосування [2].

В Україні генна інженерія, як складова новітніх біотехнологій, також віднесена до пріоритетних напрямів розвитку науки і техніки й стратегічних пріоритетів інноваційної діяльності. Овочівництво також зумовлює досить неоднозначне сприйняття процесу поширення сфери застосування продукції з генетично модифікованими складовими як

спеціалістами галузей науки та виробництва, представниками управлінських державних структур, так і широкими верствами населення.

Негативне ставлення частини суспільства до досягнень генної інженерії пов'язане, насамперед, з відсутністю переконливих науково обґрунтованих гарантій щодо безпеки генетично модифікованих організмів (ГМО) для здоров'я людини та довкілля загалом.

Науково обґрунтоване заперечення досягається шляхом чіткої регламентації порядку ведення науково-дослідних робіт щодо ГМО у закритих системах, установлення правил вивільнення генетично модифікованих організмів у довкілля, проведення їхньої польової апробації та державної реєстрації, цивілізованого розміщення ГМО у продукції на ринку, здійснення постійного багаторівневого контролю за додержанням та виконанням відповідних нормативно-правових положень тощо [3]. Особливо

це актуально для сортів овочевих і баштанних рослин, товарна продукція яких є сировиною для харчової (особливо дитяче, дієтичне харчування), переробної та фармакологічної промисловості.

### Результати досліджень.

Швидке поширення здобутків генної інженерії у світі не могло оминути й Україну. У 80-ті роки ХХ століття в країні проводились роботи з отримання асиметричних соматичних гібридів і цибридів.

У результаті вивчення міжвидових і міжтрибних гібридів отримані важливі результати відносно невідповідності просторового розташування хромосом. Виявлене та вивчене явище двобатьківського успадкування цитоплазматичних генів у соматичних гібридах було зареєстровано в СРСР як відкриття під № 362. У 1984 р. за цикл досліджень галузевої програми «Розробка фундаментальних основ клеточної (генетической) інженерії рослин» ряд науковців

(Ю.Ю. Глеба, І.К. Комарницький, В.А. Сидоров) відзначені Державною премією СРСР [4].

Сьогодні серед вітчизняних науковців відсутня консолідація щодо створення та практичного використання генетично модифікованих організмів.

Немало вчених і суспільних діячів стверджують про підвищену небезпечність використання продукції, створеної на основі ГМО. Така позиція гальмує розвиток біотехнологічної галузі України.

Запровадження заборони на використання продукції, отриманої з використанням генетично модифікованих організмів, може стати причиною зникнення ліків, фармпрепаратів та інших продуктів, які не мають альтернативи. Необхідні наукові експериментальні дослідження для зважених та обґрунтованих висновків щодо формування позитивної чи негативної думки суспільства.

Аналіз міжнародних і вітчизняних нормативно-правових документів сприяв напрацюванню необхідної інформації для подальшої роботи, зокрема, розробки методологічних засад щодо визначення впливу генетично модифікованих організмів на довкілля та здоров'я людини.

Отже, враховуючи зростаючий інтерес до біотехнологічної продукції овочівництва та збільшення посівних площ під ГМ-культурами, у рамках державних ініціатив потрібно поглибити наукові дослідження з оцінки ризику за умов упровадження генно-інженерної діяльності.

На основі вищезазначеного, учасники процесу розроблення та комерціалізації ГМО і продуктів, створених з їх використанням, формують своє ставлення до згаданих процесів, наполягаючи на більш чи менш жорсткому їх регулюванні.

Вітчизняне законодавство, нормативно-правова та методична база, що стосується здійснення генно-інженерної діяльності, процедури оцінки ризиків ГМО, реєстрації та регулювання обігу ГМО за багатьма ключовими позиціями не відповідає існуючій міжнародній практиці. Тільки в результаті тривалого, глибокого, різностороннього дослідження проблеми вчені України зможуть дати відповідь на всі питання суспільства.

Досягнення сучасної генної інженерії в овочівництві України базується на створенні однієї з найбільших у світі колекцій клітинних ліній, екстрактів і банку зародкової плазми рослин світової флори: стійкість до гербіцидів, шкідників і пониженої температури; модифікація жирно-кислотного складу олії; здатність до продукування фармакологічних білків і виробництва біодеградуючих полімерів; чоловіча стерильність / відновлення фертильності [5].

Головні напрями трансгенезу сортів овочевих рослин полягають у створенні трансгенних сортів, гібридів і ліній стійких до:

- гербіцидів (томат, капуста білоголова, перець, морква, горох, спаржа, салат);
- вірусів (томат, кабачок, огірок, диня, перець, горох, квасоля, салат);
- шкідливих комах (томат, капуста білоголова, баклажан, горох);
- фітопатогенних грибів (томат, морква);
- фітопатогенних бактерій (томат, диня);
- високих концентрацій солей у ґрунтовому розчині (диня);
- підвищеної лежкості плодів (томат, перець, диня);
- підвищеного амінокислотного складу рослин (квасоля);
- пониження вмісту нітратів

і підвищення вмісту заліза (салат);

- створення форм із чоловічою цитоплазматичною та ядерно-цитоплазматичною стерильністю (кабачок, капуста білоголова).

Використовуючи досягнення геноміки, розробки нових швидких методів сиквенсу та визначення функцій генів постійно зростає кількість корисних генів, що використовуються в генній інженерії рослин.

З усього різноманіття методів переносу чужорідної генетичної інформації за створення трансгенних сортів овочевих і баштанних рослин найширше застосовуються:

- агробактеріальна та біобалістична трансформація;
- уведення генів у ізольовані протопласти;
- пакування ДНК у ліпосоми;
- мікроін'єкції ДНК, електропорація;
- використання векторів на основі вірусів;
- вакуумна інфільтрація ДНК у незрілі суцвіття.

На нинішньому етапі актуальні розробки Інституту клітинної біології та генної інженерії НАН України з отримання соматичних гібридів і генетично модифікованих рослин видів, що мають важливе практичне значення: гороху посівного, томатів, картоплі, баклажана, капусти.

Для окремих овочевих культур традиційні методи отримання ГМ рослин є довготривалими та малоефективними, однак нові технології дають можливість прискорити їх одержання. В таких експериментах використовують міжвидову гібридизацію, у якій один з партнерів – дикий вид (*Nicotiana africana*, *Arabidopsis thaliana*, *Oryhophragmus violaceus*), що легко трансформується і дає нестабільний гібрид з культурним видом. Під час іс-



Рис. Послідовність створення ГМ продуктів овочівництва від лабораторії до виходу продукту.

нування такого нестабільного гібрида відбувається перенос трансгена з первинного трансформанта на комерційний сорт та елімінація (загибель) генетичного матеріалу дикого виду. Для таких рослин актуальним залишається використання системи сайт-специфічної рекомбінації бактеріофага P1 та мобільних генетичних елементів у конструкціях для трансформації, що дає можливість направлено переносу генів. Перенесення генів з первинного трансформанта у комерційний сорт стає можливим через 1–2 покоління замість 5–8 поколінь.

Новим перспективним підходом генної інженерії рослин являється створення векторів на основі міні-хромосом рослин. Використання штучних хромосом рослин допомагає долати більшість недоліків існуючих систем, а саме: обмежену ємність, убудовування трансгена в геном реципієнта, нестабільну експресію. Міні-хромосомні вектори рослин, що автономно реплікуються, створюють можливість одноетапного переносу багатьох генів з метою надання рослинам комплексних ознак.

Сучасні напрями трансгенезу сортів рослин групи овочевих і баштанних рослин зумовлені особливостями генетичної трансформації пластичної ДНК. Переваги трансформації плазмід полягають у багатокопійованості молекул хлоропластикової ДНК, високий рівень продукції трансгенів; материнському

успадковуванню пластидного генома; сайт-специфічному механізмі убудовування трансгенів; прокариотичному типу експресії генів і можливості поліцистронної експресії.

Сьогодні вдосконалюються біотехнологічні підходи отримання ГМ рослин видів з родини *Fabaceae*, а саме: розроблено спосіб виділення та культивування мезофільних протопластів гороху посівного (*Pisum sativum* L.). Використовуючи метод електропорації протопластів, отримано трансгенні клітинні лінії та рослини гороху, що містять гени *As*, *npt II*, *Ds*-елемент та *gus*. За допомогою методу бомбардування мікрочастинками золота отримано трансгенні рослини гороху, що містять селективні гени *npt II* та *gus*. Стабільна інтеграція перенесених генів у геном отриманих клітинних ліній та рослин доведена за допомогою кількох молекулярно-біологічних та біохімічних методів: ПЛР, блотингібридизації за Саузерном, NPT II ELISA, тесту на GUS-активність та визначення активності NPT.

Перенесені в геном гороху гени *As* та *npt II* стабільно успадковуються та експресуються в наступних поколіннях. Методики трансформації ліній гороху розроблено за допомогою *A.tumefaciens*, електропорації протопластів і бомбардування мікрочастинками золота.

За допомогою агробактеріальної трансформації отримано трансгенні рослини гороху, що містять гени *As*, *npt II*, *Ds*-елемент

та *gus*; трансгенні рослини люцерни (*M. lupulina* L.), що містять ген *nptII*. Використовуючи для трансформації «shooty» мутант *A.tumefaciens* pGV2206, отримано високорегенераційні лінії гороху.

Залишаючи поза увагою такі позитивні сторони застосування ГМ сортів овочевих, як спрощення технологій вирощування, відсутність забруднення навколишнього середовища пестицидами, значне підвищення врожайності, зниження енергозатрат, собівартості, цін на продукти харчування, наведемо приклади ГМ конструкцій, що використовуються як продуценти цінних фармакологічних речовин.

Так, з використанням *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації вченими створено трансгенні рослини цикорію *Cichorium intybus* (сорт Пала росса) з цільовим геном *ifn-α2b*, що кодує інтерферон, з частотою трансформації експлантів 26,9%.

Загальна схема створення ГМ продуктів овочівництва представлена на рисунку.

Методом *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації отримано рослини салату *Lactuca sativa* (сортів Єралаш, Рубінове мереживо та Сніжинка) з генами, що кодують туберкульозні антигени ESAT6 та ESAT6:Ag85B(-ТМД) з частотою трансформації від 18% (Сніжинка) до 62% (Єралаш).

Трансгенні рослини салату латук, що кодують туберкульозні антигени та цикорію з генами, що шифрують інтерферон, можуть бути використані як істивні вакцини для профілактики захворювання на туберкульоз та лікування вірусних захворювань.

Упровадження сучасних біотехнологій для підвищення ефективності селекції овоче-

вих рослин є актуальним. Для цього потрібно, насамперед, створити відповідну фінансово-матеріальну базу й розробити перспективну програму спільної праці біотехнологів і селекціонерів.

**Висновки.** Необхідно врегулювати питання щодо дослідження, виробництва та використання ГМО і продукції з їх умістом. Розв'язання цих проблем потре-

бує прийняття виважених рішень щодо забезпечення нешкідливого (незагрозливого) використання ГМ рослин і продуктів їхньої переробки. Обов'язково враховувати як переваги, так і можливі негативні наслідки від застосування ГМО.

Актуальними напрямами створення ГМ сортів овочевих культур є надання їм стійкості до біотичних та абіотичних

факторів, підвищення лежкості, покращення амінокислотного складу і вмісту мікроелементів. Напрацювання у контексті новітніх біотехнологій дають можливість швидко виявляти потенційно корисні гени, придатні для використання в генній інженерії рослин, а, використовуючи перспективні підходи, отримання ГМ сортів стає можливим через одне два покоління.

## ВИКОРИСТАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Holdrege C. Understanding the unintended effects of genetic manipulation. An introduction // Unintended Effects of Genetic Manipulation – A Project of The Nature Institute. – New York, 2008.
2. Картахенський протокол по біобезопасности к конвенции о биологическом разнообразии. – Монреаль: секретариат Конвенции о биологическом разнообразии. 2000. – 40 с.
3. Сорочинський Б.В. Непередбачені ефекти генетичних модифікацій рослин та методи їх аналізу / Б.В. Сорочинський, О.М. Бурлака, В.Д. Науменко, А.С. Секан // Цитология и генетика. – 2011. – № 5. – С. 65–75.
4. Джеймс К. Основные положения обзора «Статус коммерческих Биотехнологических / ГМ культур в мире: 2009 год». <http://www.isaaa.org/publications/briefs/41/highlights/pdf/Brief41-Highlights-Russian.pdf>.
5. Matzke M.A., Mette M.F., Matzke A.J.M. Transgene silencing by the host genome defense: implications for the evolution of epigenetic control mechanisms in plants and vertebrates // Plant Mol. Biol. – 2000. – 43. – P. 401–415.



## Кравченку Владиславу Андрійовичу – 70!

Колективи державної системи охорони прав на сорти рослин та Українського інституту експертизи сортів рослин сердечно вітають відомого вченого у галузі овочівництва академіка НААН, доктора сільськогосподарських наук, професора, заступника академіка-секретаря Відділення рослинництва НААН Кравченка Владислава Андрійовича з 70-річчям від Дня народження!

Бажаємо Вам, Владиславе Андрійовичу, міцного здоров'я, прихильності долі, невичерпної енергії й наснаги. Нехай Ваша наполеглива і самовіддана праця й надалі приносить щедрі здобутки, а на життєвому шляху незмінними супутниками будуть піднесений настрій та щира вдячність співвітчизників за добрі справи на благо аграрної науки України.