УДК 575.224:577.113:577.127

НОВІ ФОРМИ ТА СОРТИ РОСЛИН, ОТРИМАНІ ЗГІДНО З ОРИГІНАЛЬНОЮ ТЕХНОЛОГІЄЮ ПРИСКОРЕНОЇ СЕЛЕКЦІЇ

А. І. ПОТОПАЛЬСЬКИЙ, *кандидат медичних наук,*
доцент, професор Європейської академії проблем людини,
Заслужений винахідник України, директор ІОВНУ
та Благодійного фонду "Небодарний цілитель"
Інститут оздоровлення і відродження народів України,
Центр духовного відродження та оздоровлення людини і довкілля
Національного університету біоресурсів і природокористування України,
завідувач лабораторії модифікації структури біологічно активних речовин
Інститут молекулярної біології і генетики НАН України,
E-mail: potopalsky@imbg.org.ua
В.А. КАЦАН, *кандидат біологічних наук, науковий співробітник*
Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
E-mail: val.katsan@gmail.com

https://doi.org/10.31548/bio2018.03.009

Отримання сортів рослин, здатних мати належний рівень продуктивності в умовах зміни клімату і все зростаючого потужного техногенного навантаження на довкілля, є дуже актуальним для сьогодення. Для вирішення цієї проблеми вже недостатньо методів класичної селекції, тому дослідники все частіше вдаються до застосування генної інженерії та ДНК технологій, які теж мають недоліки й не дають можливості досягнути бажаного результату, коли поставлено за мету отримати сорт, стійкий до дії комплексу стресорів довкілля. В нашій лабораторії в результаті досліджень, які тривали упродовж кількох десятиліть, розроблено оригінальну технологію прискореної селекції, засновану на механізмах обміну генетичною інформацією, які існують у природі. Метою даної оглядової статті є аналіз та підсумки власних досліджень, присвячених отриманню нових форм рослин з підвищеним адаптаційним потенціалом за допомогою препаратів екзогенних ДНК (е-ДНК), виявлення закономірностей спадкових змін, індукованих у разі застосування препаратів е-ДНК з метою отримання селекційно цінних змін у рослин. Показано комплексний та спрямований характер таких змін та перспективність застосування е-ДНК для прискореного створення сучасних сортів сільськогосподарських, лікарських та декоративних рослин з підвищеним адаптаційним потенціалом. Пропонується гіпотетичний механізм дії е-ДНК на спадковість рослин.

Ключові слова: *екзогенні ДНК, алкілована ДНК, зміна спадкових ознак рослин, селекційно цінні ознаки, стійкість до стресорів, фітогормони, гомеотичні гени, гомеобокс-вмісні гени*

Актуальність. Зміни клімату і зростання техногенного навантаження на довкілля дуже негативно відбиваються на життєздатності та продуктивності рослин, значною мірою знижуючи їхню врожайність та якість врожаю, тому першочерговим

завданням селекціонерів сьогодення є створення сортів з підвищеним адаптаційним потенціалом, стійких до дії комплексу стресорів і здатних давати в таких умовах високі врожаї. У пошуках нових методичних підходів для вирішення цих завдань дослідники все частіше застосовують методи генної інженерії та сучасних ДНК технологій та вдосконалюють методи класичної селекції, але проблема отримання сучасних сортів, стійких водночас до комплексу стресорів довкілля, залишається відкритою.

Виникненню сучасних ДНК технологій передувало відкриття мутагенної дії ДНК та дослідження впливу е-ДНК на спадковість живих організмів. Відкриття мутагенної дії ДНК в дослідах на дрозофілі, вперше в світі здійснене геніальним українським генетиком М.Д. Тарнавським 80 років тому [1], стало найпершим експериментальним підтвердженням генетичної активності ДНК, передвістям найвидатніших відкриттів 20 століття та епохи молекулярної біології.

Впливу екзогенних ДНК (е-ДНК) на спадковість рослин із метою отримання корисних змін присвячені численні дослідження, які проводилися в 70-80-х роках минулого сторіччя в лабораторіях світу [2]. Ми дотримуємось думки, що можливості цього напрямку досліджень і в наш час вичерпані не до кінця, він потребує подальшого розвитку і, поряд із генною інженерією, може слугувати для вирішення найактуальніших проблем, які постають перед селекціонерами. У нашій лабораторії розроблено оригінальну технологію прискореної селекції, яка дала можливість отримати понад 40 нових форм рослин [2-4]. Наша технологія полягає у використанні препаратів геномної ДНК донорів на стадії проростання насіння реципієнтів, індивідуальному добиранню концентрації ДНК та інших умов інфільтрації насіння, застосуванню препаратів ДНК, алкілованих за допомогою трифункціонального алкілувального агента – тіофосфаміду (е-ДНК(т)), поєднанню дії е-ДНК з певними стресовими чинниками та відбору рослин із бажаними спадковими змінами впродовж багатьох поколінь. Однією з найважливіших властивостей нових форм рослин, отриманих за допомогою е-ДНК, є їхня підвищена адаптаційна здатність та продуктивність, [2, 3], що відкриває перспективи використання е-ДНК в рослинництві.

Мета. Аналіз та підсумки власних досліджень, завданням яких було отримання нових форм рослин з бажаними селекційно цінними ознаками за допомогою е-ДНК, виявлення закономірностей дії е-ДНК на спадковість рослин при застосуванні їх згідно з розробленою нами технологією, аналіз перспектив даного методу та побудова гіпотези про можливий механізм впливу е-ДНК на спадковість рослин.

Матеріали і методи. Для отримання нових форм рослин було використано насіння чистих ліній рослин кожного з обраних для дослідження сортів. Перед висівом насіння у ґрунт його пророщували та здійснювали його інфільтрацію розчинами препаратів геномної ДНК донора. Виділення ДНК та отримання препаратів ДНК, алкілованої тіофосфамідом, здійснювали згідно з методами, детальний опис яких наведено в наших попередніх роботах та в монографії [3]. Відбір рослин з бажаними ознаками здійснювали упродовж багатьох поколінь, також за дії стресових чинників.

Результати дослідження та їх обговорення

1. Зміни спадкових ознак у тютюну та томатів. Нові сорти томатів та картоплі. Гіпотеза про можливий механізм дії е-ДНК. Перші дослідження, здійснені А. І. Потопальським та Б. О. Левенком на культурі клітин тютюну, який мав делецію у ДНК хлоропластів, показали можливість корекції дефіцитного за хлорофілом фенотипу тютюну за допомогою препаратів ДНК тютюну дикого типу, і можуть бути свідчен-

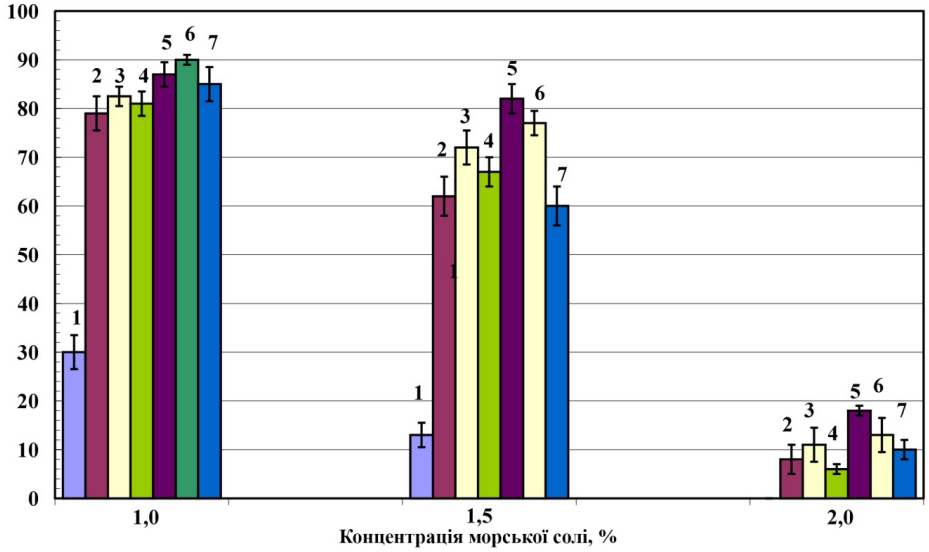

Рис. 1. Солестійкість нового сорту томатів Українські та окремих ліній при засоленні субстрату морською сіллю. Цифрами позначено: 1 – вихідний сорт Київський 139; 2 – сорт томатів Українські; 3 – лінія № 1; 4 – лінія № 2; 5 – лінія № 3; 6 – лінія № 4; 7 – лінія № 5

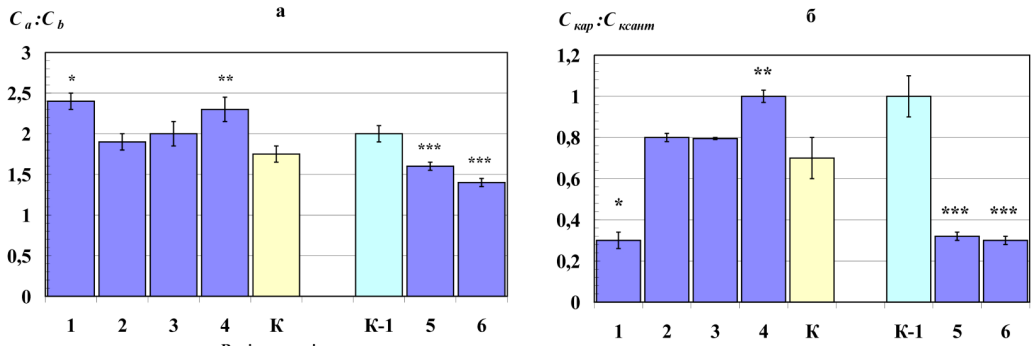

Рис. 2. Величина співвідношення вмісту хл а/хл в (Са : Св) – а та каротину і ксантофілів (Скар : Сксант) – б для стадії вигону квітконосної стрілки у листках рослин-трансформантів із поколінь Т2 та Т3.

Цифрами 1 – 4 на осі х позначені дані для листків рослин: 1,2 – із покоління Т3 після дії комплексним препаратом ДНК пасльону чорного солестійкого, pCAMVNEO та pTi8628 – 5-11-1к та 35-34-1к відповідно; 3,4 – із поколінь Т3 та Т2 відповідно від рослини № 73 (ДНК(т) pCAMVNEO; рослини 73-2-1к та 73-1к); 5 – для молодих листків рослини 5-11-1к; К і К-1 – вихідний сорт КР20 (зрілі та молоді листки відповідно); цифрою 6 позначено молоді листки рослини № 5 із Т1. Дані подано у вигляді M±m, n=10. Відмінність від контролю вірогідна при: * – P < 0,01, ** – P < 0,05, *** – P < 0,001

ням генетичної трансформації шляхом інсерції фрагмента ДНК донора [3].

На основі рослин чистої лінії сорту томатів Київський 139 за дії ДНК солестійкої форми пасльону чорного було отримано лінії солестійких томатів (рис. 1) та високоврожайний сорт солестійких томатів Українські [3] (А. с. України на сорт рослин № 08077; А. І. Потопальський, Л. Н. Юркевич). Набута солестійкість

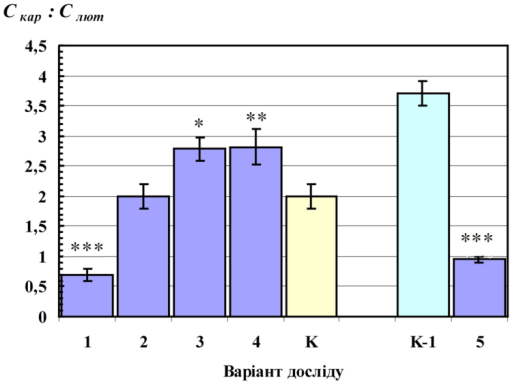

Рис. 3. Величина співвідношення вмісту каротину та лютеїну ($C_{кар}$:$C_{лют}$) для стадії вигону квітконосної стрілки (41-а доба) у листках рослин-трансформантів із поколінь T_2 та T_3.
Цифрами 1 – 4 на осі х позначені дані для листків рослин: 1,2 – із покоління T_3 після дії комплексним препаратом ДНК пасльону чорного солестійкого, *pCAMVNEO* та *pTi8628* – 5-11-1к та 35-34-1к відповідно; 3,4 – із поколінь T_3 та T_2 відповідно від рослини № 73 (ДНК(т) *pCAMVNEO;* рослини 73-2-1к та 73-1к); 5 – для молодих листків рослини 5-11-1к; К і К-1 – вихідний сорт КР20 (зрілі та молоді листки відповідно). Дані подано у вигляді M±m, n=10. Відмінність від контролю вірогідна при: * – P < 0,01, ** – P < 0,05, *** – P<0,001.

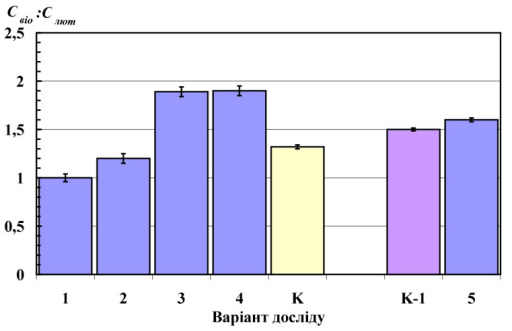

Рис. 4. Величина співвідношення вмісту віолаксантину та лютеїну ($C_{віо}$: $C_{лют}$) для стадії вигону квітконосної стрілки (41-а доба) у листках рослин-трансформантів із поколінь T_2 та T_3.
Цифрами 1 – 4 на осі х позначені дані для листків рослин: 1,2 – із покоління Т3 після дії комплексним препаратом ДНК пасльону чорного солестійкого, pCAMVNEO та pTi8628 – 5-11-1к та 35-34-1к відповідно; 3,4 – із поколінь Т3 та Т2 відповідно від рослини № 73 (ДНК(т) pCAMVNEO; рослини 73-2-1к та 73-1к); 5 – для молодих листків рослини 5-11-1к; К і К-1 – вихідний сорт КР20 (зрілі та молоді листки відповідно). Дані подано у вигляді M ± m, n = 10. Відмінність від контролю вірогідна при: *** – P < 0,001

томатів Українські значно вища, ніж у сортозразків ВІРу, є домінантною ознакою, на що вказує успадкування її при схрещуваннях томатами сорту Талаліхінський. Сорту притаманна багатоплідність (ознака донора ДНК), наявність білків, властивих солестійкому пасльону, та білків, яких не було ні в донора, ні в реципієнта [3].

Використання е-ДНК дало можливість отримати також перспективний сорт картоплі Дзвін [3] (А. с. України на сорт рослин № 1103; А. І. Потопальський, М. С. Литовченко, С. Х. Сігачова, А. С. Мисловська, М. А. Піка).

ДНК солестійкої форми пасльону виявилася ефективною також для отримання перспективних форм та ліній тютюну [2, 3]. За допомогою е-ДНК пасльону чорного солестійкого та плазмід (*pCAMVNEO*, *pTi 8628*) у тютюну сорту Крупнолистный 20, крім солестійкості, було індуковано спадкові зміни за вмістом хлорофілів та каротиноїдів упродовж розвитку (рис. 2-4), часом настання старіння фотосинтетичних тканин. Спадкові зміни співвідношення вмісту окремих груп пігментів фотосинтезу, зокрема хлорофілів *а* та *в*,

Рис. 5. Успадковування "дикого" зеленого фенотипу (збереження хлорофілів до завершення розвитку) в рослин тютюну після інфільтрації проростаючого насіння жовтолистого сорту КР20 розчинами препаратів е-ДНК(т): контроль, сорт КР20 – праворуч, посередині та ліворуч – T_2 від рослини № 113 (е-ДНК(т) пасльону чорного солестійкого та від рослини № 73 (е-ДНК(т) *pCAMVNEO* відповідно

віолаксантину та лютеїну [2-4], можуть бути свідченням адаптаційних перебудов у фотосистемах, які зазвичай індукуються при зміні умов освітлення.

Збереження хлорофілів у листках до завершення розвитку (рис. 5) є корисною ознакою, яка сприяє більшому накопиченню корисних речовин, котрі обумовлюють якість сировини; швидке руйнування хлорофілів у зрілих листках при завершенні розвитку є також корисною ознакою, що забезпечує бажаний колір сировини високої якості [3].

Новим формам рослин тютюну були притаманні також ранні терміни зацвітання, зміни забарвлення квітів, морфології листків, втрата апікального домінування та здатність утворювати значну кількість бічних пагонів. Отримані безалкалоїдні форми тютюну можуть бути використані як лікарські рослини [3].

Результати досліджень, проведених на тютюні, послужили також базою для гіпотези про можливість впливу е-ДНК на системи регуляції геному, відповідальні за адаптацію до змін у довкіллі. Впливом е-ДНК на гени, які кодують ключові компоненти таких сигнальних сіток, можна було б пояснити плейотропний характер багатьох змін, отримуваних за допомогою е-ДНК [2-4].

Запропонована нами гіпотеза узгоджується з гіпотезою, раніше запропонованою Ю. М. Алєксандровим та С. М. Гершензоном про активізацію переміщень мобільних генетичних елементів (МГЕ) як основний механізм дії е-ДНК на геном господаря, оскільки відомо, що активізація транспозонів є основою одного з механізмів адаптації (Л. З. Кайданов, 1979 – згідно з [2, 3]).

2. Мутації, отримані за допомогою е-ДНК у жита. Новий сорт жита, який став Державним стандартом для тетраплоїдів. Міжродові гібриди та перспективні форми інших злакових. На диплоїдному озимому житі Житомирське за допомогою е-ДНК рослинного та тваринного походження було отримано 16 мутацій, в тому числі

1. Частота появи рослин з ярим типом розвитку в поколінні T_1 після дії е-ДНК та е-ДНК(т) на проростаюче насіння озимого жита сорту Житомирське

Варіант досліду	Ярих рослин, %	Варіант досліду	Ярих рослин, %
	M0±m		M0±m
Контроль (дистильована вода)	**2,00±1,16**	**Той же**	
ДНК із тимусу теляти, 100-400 мкг/мл	14,37±2,25***	ДНК(т) із тімусу теляти, 100-200 мкг/мл	8,26±2,50*
ДНК людини, 100-400 мкг/мл	14,77±2,37***	ДНК(т) людини, 100-200 мкг/мл	12,50±4,41*
ДНК гороху, 100-200 мкг/мл	10,56±2,77***	ДНК(т) гороху, 100 мкг/мл	5,87±2,89
ДНК пирію, 100-200 мкг/мл	10,80±2,33***	ДНК(т) пирію, 100-200 мкг/мл	3,44±1,41
ДНК нетреби колючої, 100-300 мкг/мл	8,19±2,01**	ДНК(т) нетреби колючої, 100-300 мкг/мл	2,00±1,45
ДНК щириці, 100-200 мкг/мл	9,62±2,87**	ДНК(т) щириці, 100-200 мкг/мл	4,28±1,71
ДНК топінамбуру, 100-300 мкг/мл	7,82±2,08**	ДНК(т) топінамбуру, 100-300 мкг/мл	6,34±1,83*

Примітка. Відмінність від контролю достовірна при: * – P=0,05; ** – P=0,01; *** – P=0,001

2. Вплив препаратів екзогенних ДНК на довжину головного стебла (% від контролю) жита сорту Житомирське в T_1(1) та в T_2 (2)

Препарат ДНК		е-ДНК				е-ДНК(т)		
		100 мкг/мл	200 мкг/мл	300 мкг/мл	400 мкг/мл	100 мкг/мл	200 мкг/мл	400 мкг/мл
тимусу	1	90,1±2,5 ***	81,2±2,8 ***	83,6±3,0 ***	82,0±1,7***	78,5±4,6 ***	90,7±3,8***	-
	2	93,1±3,2	80,4±3,5 **	86,2±5,1 *	82,2±5,9	83,0±3,7 **	81,8±3,9**	
людини	1	100,1±2,2	100,8±4,0	100,0±2,9	91,4±2,4*	100,8±2,9	91,3±2,4**	-
	2	92,6±4,6	105,4±3,2	89,5±4,7	85,9±2,3*	88,7±6,4	90,5±6,0	-
кукуру-	1	90,8±2,7 **	91,1±2,4 ***	-	84,8±3,9***	100,2±2,0	91,4±1,9***	56,8±4,9***
	2	98,3±5,3	99,1±2,4	-	80,4±3,5***	86,5±4,8	82,3±1,7***	61,1±2,9***
щириці	1	91,8±4,5 **	92,0±3,3 **	-	-	92,4±3,3 ***	92,3±2,8***	-
	2	84,3±4,9 ***	74,8±4,3 ***	-	-	83,8±4,1 *	90,1±2,4*	-
люпину	1	100,5±2,2	-	-	-	101,4±1,3	-	-
	2	100,8±2,1	-	-	-	92,2±3,1	-	-
контроль	1	108,98±1,78 см – 100%						
	2	131,5±3,80 см – 100 %						

Примітка: Відмінність від контролю вірогідна при: * – P ≥ 0,1; ** – P ≥ 0,01; *** – P ≥ 0,001.

селекційно цінних [3]. Серед них перш за все заслуговують на увагу нові форми ярих рослин, отримані з озимих (табл .1), та стійкі до вилягання короткостеблові форми жита (табл. 2, рис. 6).

Відомо, що механізми адаптації до низьких температур у зернових пов'язані з наявністю гомеотичних MADS бокс-вмісних генів озимості-ярості, які здатні переходити до іншого алельного стану [5]. Зокрема, необхідний для набуття ознаки ярості перехід *vrn-1*→*VRN-1* відбувається за делеції чи інерції в зоні промотора (в районі CArG-боксу) або делеції послідовності завдовжки 440 п. н. в першому інтроні, що унеможливлює приєднання репресорів флорального розвитку, дія яких усувається яровизацією. Озимість та ярість

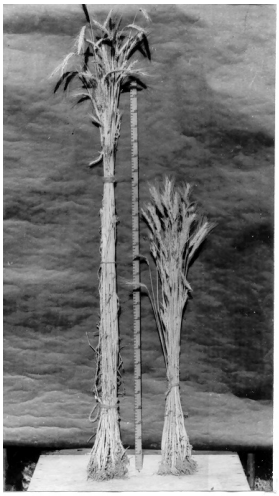

Рис. 6. Короткостеблова форма жита (праворуч), отримана після дії е– ДНК(т) кукурудзи на жито сорту Житомирське

контролюються також домінантними та рецесивними алелями гена VRN-2, що є репресором флорального розвитку,та іншими активаторами та репресорами переходу до цвітіння, гени яких теж належать до родини MADS боксу, і які прямо чи опосередковано впливають на експресію генів VRN-1 (згідно з [3]). В нашому дослідженні можливий алельний перехід гена *vrn-1*→*VRN-1* або гена *VRN-2*→ *vrn-2*. Морфологічні зміни, отримані у жита водночас із набуттям ознаки ярості, можуть бути пов'язаними з мутаціями гомеотичних генів іншого класу – гомеобокс-вмісних, які є універсальними регуляторами процесів морфогенезу в рослинному та тваринному світі [6].

Головними факторами, які регулюють довжину стебла та меживузоль, є рівень біологічно активних гіберелінів у провідних тканинах та чутливості до них [7,8]. Висота рослин та ознаки, від яких залежить врожайність, у зернових детермінуються комплексом гіберелінів, брасіностероїдів та цитокінінів [9]. Рівень фітогормонів у рослинних тканинах контролюється сигналами від програми розвитку та від довкілля, підполягає регуляції гомеобоксними генами [10-12]. Ініціювання та розвиток додаткових органів (стебел, пагонів, галуження квітконосного стебла, осі суцвіття, розділення листкової пластинки на сегменти, тощо), вміст хлорофілів, поява антоціанових пігментів також регулюється гомеобоксними генами [13-17]. Вага зерен, зокрема в пшениці, контролюється геном-модулятором, який може мати плейотропну дію на довжину стебла [18]. Отже, в отриманих нових форм жита може бути зміненим рівень фітогормонів у тканинах як наслідок змін у найважливішій ланці його регуляції за участю гомеобокс-вмісних генів.

Отримана нами ознака короткостебловості в диплоїдного озимого жита сорту Житомирське успадковувалася згідно Менделю як домінантний моногенний фактор, зменшення довжини стебла відбувалося за рахунок зменшення довжини всіх меживузоль [3]. Водночас спостерігали ознаки, пов'язані із продуктивністю жита: галуження стебла та колосу – в поколінні T_2; домінантну мутацію триквітковості жита, яка дає збільшення зерна з колосу на 65 % – в поколіннях T_3-T_4 рослин при застосуванні е-ДНК(т) [3]. Загалом найефективнішою для посилення формотворчого процесу в жита виявилася інфільтрація колосків до запилення е-ДНК(т) дводольної рослини з наступним запиленням сумішшю власного та чужого пилку.

Об'єктом для досліджень впливу е-ДНК стало також тетраплоїдне жито. Сорт тетраплоїдного жита Славутич М-1 створено за обробки насіння жита Славутич, отриманого раніше у нашій лабораторії С. Г. Машталер, е-ДНК(т) пирію. Тетраплоїдне яре жито сорту Світанок було отримано за обробки насіння сорту Ленінградське тетраплоїдне е-ДНК(т) рослинного походження. Результатом багаторічної праці став сорт тетраплоїдного жита Древлянське (А.с. № 248808; А. І. Потопальський, Л. Н. Юркевич, М. П. Литовченко [3]), яке визнане в Україні Державним стандартом для його тетраплоїдних сортів [3]. Жито Древлянське отримано на основі рослин тетраплоїдного сорту Белта за дії препаратів е-ДНК тваринного походження з наступним добором на збіднених азотом ґрунтах.

За допомогою е-ДНК темнозернистої кукурудзи на основі рослин жита сорту Житомирське було створено нову форму озимого жита – Житнях, якому притаманні високий адаптаційний потенціал, невибагливість до ґрунтів, стійкість до кореневої гнилі, борошнистої роси та плісняви; засухо- та зимостійкість [3]. Іншим прикладом міжродового гібрида є ячмінь сорту Кучмінь, створений за дії е-ДНК(т) кукурудзи з чорним зерном на ярий ячмінь сорту Подільський-14 та наступним інди-

відуальним добором на збіднених азотом ґрунтах високопродуктивних рослин, стійких до хвороб та інших стресорів довкілля. Високобілковий молекулярний озимий гібрид пшениці та жита – Пашницю створено за обробки насіння рослин високоврожайної лінії пшениці Асоціативна остиста нашої селекції е-ДНК(т) тетраплоїдного жита сорту Древлянське з наступним покращуючим добором на збіднених азотом ґрунтах [3].

Застосування нашої технології дало можливість отримати також скоростиглий сорт цукрової кукурудзи Делікатесна; високоврожайний, стійкий до вилягання, дії комплексу стресорів довкілля та здатний давати високі врожаї на збіднених азотом ґрунтах сорт вівса Незламний, пшеницю інтенсивного типу Асоціативну-1, сорго Солестійке, просо Поліське піщане, тощо. Сорт вівса Незламний створено за дії на зерно вівса сорту Льговський е-ДНК(т) очерету з наступним селекційним добором високоврожайних форм на збіднених азотом та засолених ґрунтах. Сорт пшениці Асоціативна-1 отримано за дії препаратів е-ДНК(т) рослинного походження на насіння пшениці Асоціативна остиста з наступним покращуючим добором рослин на збіднених азотом ґрунтах. Сорт проса Поліське піщане, якому притаманні збільшення рівня асоціативної азотфіксації, високий вміст білка, його альбумінових фракцій, незамінних амінокислот – лізину, метіоніну та здатність давати високі врожаї на бідних на азот ґрунтах, був отриманий за обробки насіння проса сорту Янтарне препаратами е-ДНК(т) диких злаків та завдяки наступному добору найбільш перспективних рослин на збіднених азотом ґрунтах [3].

Принциповою новизною одержаних за новою біотехнологією злаків є їх здатність до асоціативної фіксації атмосферного азоту завдяки цій властивості, переданій від дикорослих злаків (пирію, очерету, арундо донакс, тощо). Подальший розвиток цього напрямку досліджень і впровадження його в практику є дуже перспективним, оскільки дає можливість звільнитися від азотних добрив, дороговартісних і шкідливих для довкілля. Створення сортів злаків, здатних до ефективної фіксації атмосферного азоту за допомогою діазотрофів, асоційованих з кореневою системою рослин, є першочерговою задачею планетарного масштабу, зокрема, у США на такі дослідження виділяється фінансування, яке перевищує сумарні витрати на космічну тематику.

3. Отримання перспективних форм лікарських, декоративних та кормових рослин. За допомогою е-ДНК отримано багато нових форм рослин –лікарських, декоративних та багатоцільового призначення. Поміж ними – захищені авторськими свідоцтвами сорт ехінацеї пурпурової Поліська красуня (А. с. України на сорт рослин № 07012; А. І. Потопальський, Л. Н. Юркевич) та сорт гарбузів кавбуз Здоровʼяга (А. с. України на сорт рослин № 05119; А. І. Потопальський), який має морфологічні ознаки гарбуза та кавуна, є лікарською рослиною та цінним дієтичним овочем [3,19]; безалкалоїдні форми люпину та створені на їх основі сорт люпину жовтого (Lupinus luteus) Індустріальний, захищений авторським свідоцтвом (автор – А. І. Потопальський), та сорт люпину багаторічного (Lupinus polyphyllus Lindl.) Поліська веселка.

Ехінацея сорту Поліська красуня була отримана за дії препарату ДНК(т) ромашки звичайної на насіння рослини ехінацеї пурпурової, акліматизованої в Україні. Сорт Поліська красуня відзначається підвищеною продуктивністю за біомасою, вмістом біологічно активних сполук, більш морозостійкий та посухостійкий, раніше починає вегетацію та зацвітає; імуностимулююча та протипухлинна дія у рослин цього сорту на 20 % вища, ніж у вихідної форми [3].

Кавбуз Здоров'яга було отримано за дії е-ДНК(т) кавуна на насіння гарбуза. Виявлено відмінності у складі нуклеотидів геномної ДНК кавбуза Здоров'яга, який є міжродовим гібридом кавуна (*Citrullus lanatus)* та гарбуза великоплідного (*Cucurbita maxima)*, порівняно з донором та реципієнтом ДНК, а також складу білків та цукрів [3].

На даний час показана перспективність використання кавбуза Здоров'яга в селекційному процесі для збагачення генофонду гарбузів при отриманні їх нових сортів методом віддаленої гібридизації [20]. За зовнішнім видом Кавбуз Здоров'яга є *Cucurbita maxima* з поліпшеними, селекційно цінними ознаками: смугасто-зеленим та оранжевим кольором плодів, відсутністю під корою зеленого шару клітин, що є сприятливим для використання в якості сировини у переробній промисловості, та значно підвищеним вмістом корисних речовин (цукрів, пектину, каротину, вітаміну С).

Кавбуз Здоров'яга був використаний як одна із вихідних батьківських форм в удосконаленій схемі селекційного процесу, розробленій в Інституті південного овочівництва і баштанництва УААН (Херсон). Понад 10 років тому вперше була підтверджена важлива очікувана властивість отриманого за новою технологією гібрида кавуна і гарбуза передавати свої властивості нащадкам також за класичної міжвидової гібридизації. За схрещування з Кавбузом Здоров'яга були отримані прості, подвійні та потрійні міжвидові фертильні гібриди, що є новим, розробленим Інститутом південного овочівництва і баштанництва УААН способом збагачення генофонду всіх гарбузів – учасників схрещування [20]. Новий спосіб збагачення генофонду гарбузів захищений патентом України [21]. Використання цієї методики дало можливість отримати нові, перспективні для подальшого селекційного процесу форми міжвидових гібридів гарбузів та скоростиглий сорт великоплідних гарбузів Універсал універсального призначення, який поєднав у собі комплекс корисних ознак, успадкованих від Кавбуза та нових, отриманих завдяки гібридизації [21,22]. Сорту Універсал (Кавбуз х Волжская серая) притаманні рожево-червоний колір плодів, близький до оранжевого кольору м'якоті, відсутність під корою зеленого шару клітин, велике та середнє насіння сріблясто-білого кольору з тонкою оболонкою, високий вміст каротину (13-15 мг %) та пектинових речовин (до 10 % на суху речовину); також корисна маркерна ознака – яскраво жовтий колір плодоніжок жіночих квіток, що суттєво полегшує ведення насінництва даного сорту; протягом перших 7-10 днів на рослинах зацвітають тільки жіночі квітки, що є ознакою, корисною для отримання гетерозисних гібридів [22].

Висновки. Однією з найважливіших властивостей нових форм рослин, отриманих за допомогою е-ДНК, є їхня підвищена адаптаційна здатність та продуктивність. Показано комплексний і спрямований характер змін, отримуваних у рослин за допомогою е-ДНК, та перспективність використання е-ДНК згідно з розробленою нами технологією для отримання нових форм і сортів рослин – сільськогосподарських, лікарських, декоративних та багатоцільового призначення.

Аналіз численних змін, отриманих на різних рослинах, дає можливість зробити припущення, що екзогенні ДНК впливають на системи регуляції геному, відповідальні за адаптацію до змін у довкіллі. Оскільки отримані нами зміни ідентичні таким, які обумовлюються відомими мутаціями гомеотичних генів, а також змінами в регуляції їх експресії, дуже ймовірно, що мішенями дії е-ДНК можуть бути саме гомеотичні гени, які належать до MADS-боксу та гомеобоксу, кодують фактори транскрипції та контролюють проход-

ження окремих етапів програми розвитку, ідентичність тканин та органів, форму органів, а також гени стресового сигналінгу, які модулюють розвиток тканин та органів залежно від умов довкілля. Серед гомеотичних генів особливої уваги заслуговують гомеобокс-вмісні як найбільш численні [6; 13-17] та такі, які пов'язані з відповідями на різноманітні стресори [23-25]. Заслуговує на увагу, що найперша з мутацій, отримана за допомогою е-ДНК на дрозофілі М. Д. Тарнавським, є гомеотичною [1]. Показана універсальність використання нашої технології також для отримання корисних спадкових змін у комах, риб та теплокровних тварин.

Література

1. Голда Д.М., Потопальський А.І., Кацан В.А. Листи у Вічність українського генетика Миколи Тарнавського. Фізика живого. 2008. Т.16, № 2. С.191–197.
2. Katsan V.A., Potopalsky A.I. Exogenous DNAs may influence plant adaptation reactions to changed environment. Biopolym. Cell. 2006. Vol. 22, Issue 4. P. 307–316.
3. Кацан В.А., Потопальський А.І. Особливості дії препаратів екзогенних ДНК при отриманні нових форм тютюну: монографія. Київ: Колобіг, 2007. 76 с.
4. Кацан В.А., Потопальський А.І. Зміни співвідношення вмісту деяких пігментів фотосинтезу, індуковані в Nicotiana tabacum L. екзогенними ДНК. Укр. біохім. журн. 2006. Т. 78, № 5. С. 70–80.
5. Kippes N., Chen A., Zhang X., Lukaszewski A.J., Dubcovsky J. Development and characterization of a spring hexaploid wheat line with no functional VRN2 genes. Theor. Appl. Genet. 2016. Vol. 129, Issue 7. P. 1417–1428.
6. Mukherjee K., Brocchieri L., Bürglin T.R. A comprehensive classifica-tion and evolutionary analysis of plant homeobox genes. Mol. Biol. Evol. 2009. Vol. 26, Issue 12. P. 2775–2794.
7. Davière J.M., Wild M., Regnault T., Baumberger N., Eisler H., Genschik P., Achard P. Class I TCP-DELLA interactions in inflorescence shoot apex determine plant height. Curr. Biol. 2014. Vol. 24, Issue 16. P.1923–1928.
8. Zhang Y., Ni Z., Yao Y., Nie X., Sun Q. Gibberellins and heterosis of plant height in wheat (Triticum aestivum L.) BMC Genet. 2007. 8:40. Available at: https://bmcgenet.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/1471-2156-8-40.
9. Sakamoto T. Phytohormones and rice crop yield: strategies and opportunities for genetic improvement. Transgenic Res. -2006. Vol. 15, Issue 4. P. 399-404.
10. Stavang J.A., Lindgard B., Erntsen A., Lid S.E., Moe R., Olsen J.E. Thermoperiodic stem elongation involves transcriptional regulation of gibberellin deactivation in pea. Plant Physiol. 2005. Vol. 138, Issue 4. P. 2344 –2353.
11. Shimizu R., Ji J., Kelsey E., Ohtsu K., Schnable P.S., Scanlon M.J. Tissue specificity and evolution of meristematic WOX3 function. Plant Physiol. 2009. Vol. 149, Issue 2. P. 841 – 850.
12. Rosin F.M., Hart J.K., Horner H.T., Davies P.J., Hannapel D.J. Overexpression of a knotted–like homeobox gene of potato alters vegetative development by decreasing gibberellin accumulation. Plant Physiol. 2003. Vol. 132, Issue 1. P. 106–117.
13. Hay A., Tsiantis M. KNOX genes: versatile regulators of plant development and diversity. Development. 2010. Vol. 137, Issue 19. P. 3153–3165.
14. Lian G., Ding Z., Wang Q., Zhang D., Xu J. Origins and evolution of WUSCHEL-related homeobox protein family in plant kingdom. The Scientific World Journal. 2014:534140. Available at: https://www.hindawi.com/journals/tswj/2014/534140.
15. Sicard A., Thamm A., Marona C., Lee Y.W., Wahl V., Stinchcombe J.R., Wright S.I., Kappel C., Lenhard M. Repeated evolutionary changes of leaf morphology caused by mutations to a homeobox gene. Curr. Biol. 2014. Vol.24, Issue 16. P. 1880–1886.
16. Liu M., Lei L., Miao F., Powers C., Zhang X., Deng J., Tadege M., Carver B.F., Yan L. The STENOFOLIA gene from Medicago alters leaf width, flowering time and chlorophyll content in transgenic wheat. Plant Biotechnol. J. 2018. Vol. 16, Issue 1. P. 186-196.
17. Alvarez J.M., Bueno N., Cañas R.A., Avila C., Cánovas F.M., Ordás R.J. Analysis of the WUSCHEL-RELATED HOMEOBOX gene family in Pinus pinaster: New insights into the gene family evolution. Plant Physiol Biochem. 2018. Vol. 123. P. 304–318.

18. Röder M.S., Huang X.Q., Börner A. Fine mapping of the region on wheat chromosome 7D controlling grain weight. Funct. Integr. Genomic. 2008. Vol. 8, Issue 1. P. 79–86.
19. Потопальський А.І., Юркевич Л.Н., Воробйова І.І. Кавбуз – найбільша у світі цілюща ягода: монографія. Вінниця : Нова книга, 2004. 80с.
20. Діденко В.П., Діденко Т.В., Холодняк О.Г. Методика збагачення генофонду гарбузів методом віддаленої гібридизації. Херсон: Айлант, 2010. 8 с.
21. Діденко В.П., Діденко Т.В. Спосіб збагачення генофонду гарбузів: Патент України на корисну модель 28808, МПК (2006) А01Н 1/04; заявл. 20.07.2007, опубл. 25.12.2007.
22. Діденко В.П., Діденко Т.В. Спосіб створення скоростиглого сорту Універсал великоплідних гарбузів (C.maxima) універсального призначення: патент України на корисну модель 56573, МПК (2011.01) А01Н 1/04, А01Н 5/00; заявл. 06.04.2010, опубл. 25.01.2011, Бюл. № 2.
23. Zhao P., Cui R., Xu P., Wu J., Mao J.L., Chen Y., Zhou C.Z., Yu L.H., Xiang C.B. ATHB17 enhances stress tolerance by coordinating photosynthesis associated nuclear gene and ATSIG5 expression in response to abiotic stress. Sci. Rep. 2017. 7:45492. Available at: https://www.nature.com/articles/srep45492.pdf.
24. Yue H., Shu D., Wang M., Xing G., Zhan H., Du X., Song W., Nie X. Genome-Wide Identification and Expression Analysis of the HD-Zip Gene Family in Wheat (Triticum aestivum L.I). Genes (Basel). 2018. 9(2):70. Available at: http://www.mdpi.com/2073-4425/9/2/70.
25. Singh A., Roy S., Singh S., Das S.S., Gautam V., Yadav S., Kumar A., Singh A., Sukanya S., Sarkar A.K. Phytohormonal crosstalk modulates the expression of miR166/165s, target Class III HD-ZIPs, and KANADI genes during root growth in Arabidopsis thaliana. Sci. Rep. 2017. 7(1):3408. Available at: https://www.nature.com/articles/s41598-017-03632-w.pdf.

References

1. Golda, D.M., Potopalsky, A.I., & Katsan, V.A. (2008). The Letters to the Eternity of the ukrainian geneticist Mykola Tarnavsky. Physics Alive, 16 (2), 191–197.
2. Katsan, V.A., & Potopalsky, A.I. (2006). Exogenous DNAs may influence plant adaptation reactions to changed environment. Biopolym. Cell, 22 (4), 307–316.
3. Katsan, V.A., & Potopalsky, A.I. (2007). Osoblyvosti dii preparativ ekzogennykh DNK pry otrymanni novykh form tiutiunu. [Peculiarities of the action of the exogenous DNAs preparations while obtaining on the new forms of tobacco plants]. Kyiv: Kolobig, 176.
4. Katsan, V.A., & Potopalsky, A.I. (2006). The changes of the ratio content of some photosynthetic pigments induced in Nicotiana tabacum L. by exogenous DNAs. Ukr. Biochem. J., 78 (5), 70–80.
5. Kippes, N., Chen, A., Zhang, X., Lukaszewski, A.J., & Dubcovsky, J. (2016). Development and characterization of a spring hexaploid wheat line with no functional VRN2 genes Theor. Appl. Genet., 129 (7), 1417–1428.
6. Mukherjee, K., Brocchieri, L., & Bürglin, T.R. (2009). A comprehensive classification and evolutionary analysis of plant homeobox genes. Mol. Biol. Evol., 26 (12), 2775–2794.
7. Davière, J.M., Wild, M., Regnault, T., Baumberger, N., Eisler, H., Genschik, P. & Achard, P. (2014). Class I TCP-DELLA interactions in inflorescence shoot apex determine plant height. Curr. Biol., 24 (16), 1923–1928.
8. Zhang, Y., Ni, Z., Yao, Y., Nie, X., & Sun, Q. (2007). Gibberellins and heterosis of plant height in wheat (Triticum aestivum L.). BMC Genet. 8:40. Available at: https://bmcgenet.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/1471-2156-8-40.
9. Sakamoto, T. (2006). Phytohormones and rice crop yield: strategies and opportunities for genetic improvement. Transgenic Res., 15 (4), 399-404.
10. Stavang, J.A., Lindgard, B., Erntsen, A., Lid, S.E., Moe, R., & Olsen, J.E. (2005). Thermoperiodic stem elongation involves transcriptional regulation of gibberellin deactivation in pea. Plant Physiol., 138 (4), 2344 –2353.
11. Shimizu, R., Ji, J., Kelsey, E., Ohtsu K., Schnable, P.S., & Scanlon, M.J. (2009). Tissue specificity and evolution of meristematic WOX3 function. Plant Physiol., 149 (2), 841 – 850.
12. Rosin, F.M., Hart, J.K., Horner, H.T., Davies, P.J., & Hannapel, D.J. (2003). Overexpression of a knotted–like homeobox gene of potato alters vegetative development by decreasing gibberellin accumulation. Plant Physiol., 132 (1), 106–117.

13. Hay, A., & Tsiantis, M. (2010). KNOX genes: versatile regulators of plant development and diversity. Development, 137 (19), 3153–3165.
14. Lian, G., Ding, Z., Wang, Q., Zhang, D., & Xu, J. Origins and evolution of WUSCHEL-related homeobox protein family in plant kingdom. The Scientific World Journal. 2014:534140. Available at: https://www.hindawi.com/journals/tswj/2014/534140.
15. Sicard, A., Thamm, A., Marona, C., Lee, Y.W., Wahl, V., Stinchcombe, J.R., Wright, S.I., Kappel, C., & Lenhard, M. (2014.). Repeated evolutionary changes of leaf morphology caused by mutations to a homeobox gene. Curr. Biol., 24 (16), 1880–1886.
16. Liu, M., Miao, F., Powers, C., Zhang, X., Deng, J., Tadege, M., Carver, B.F., & Yan, L. (2018). The STENOFOLIA gene from Medicago alters leaf width, flowering time and chlorophyll content in transgenic wheat. Plant Biotechnol. J., 16 (1), 186-196.
17. Alvarez, J.M., Bueno, N., Cañas, R.A., Avila, C., Cánovas, F.M., & Ordás, R.J. (2018). Analysis of the WUSCHEL-RELATED HOMEOBOX gene family in Pinus pinaster: New insights into the gene family evolution. Plant Physiol Biochem., 123, 304–318.
18. Röder M.S., (2008). Fine mapping of the region on wheat chromosome 7D controlling grain weight. Funct. Integr. Genomic, 8 (1), 79–86.
19. Potopalsky, A.I., Yurkevych, L.N., & Vorobiova, I.I. (2004). Kavbuz – naibilsha v sviti tsiliuscha yagoda [Kavbuz – the largest in the world healing berry]. Vinnytsia : Nova knyga, 80.
20. Didenko, V.P., Didenko, T.V., & Kholodniak, O.G. Metodyka zbagachennia genofondu garbuziv metodom viddalenoi hibridizatsii [The technique of enrichment of the pumpkins gene pool by the method of distant hybridization]. Kherson: Ailant, 2010, 8.
21. Didenko, V.P., & Didenko, T.V. (2007). Sposib zbagachennia genofondu garbuziv [The method of enrichment of the pumpkins gene pool]. The patent of Ukraine for the useful model 28808, IPC (2006) A01H 1/04; declared 20.07.2007, published 25.12.2007.
22. Didenko, V.P. & Didenko, T.V. (2010). Sposib stvorennia skorostyglogo sortu Universal velykoplidnykh garbuziv (C. maxima) universalnogo pryznachennia [The method of obtaining of precocious cultivar Universal of the large-fruited pumpkins (C. maxima) having universal use]. The patent of Ukraine for the useful model 56573, IPC (2011.01) A01H 1/04, A01H 5/00; declared 06.04.2010, published 25.01.2011, № 2.
23. Zhao, P., Cui, R., Xu, P., Wu, J., Mao, J.L., Chen, Y., Zhou, C.Z., Yu, L.H., & Xiang, C.B. (2017). ATHB17 enhances stress tolerance by coordinating photosynthesis associated nuclear gene and ATSIG5 expression in response to abiotic stress. Sci. Rep., 7:45492. Available at: https://www.nature.com/articles/srep45492.pdf.
24. Yue, H., Shu, D., Wang, M., Xing, G., Zhan, H., Du, X., Song, W., & Nie, X. (2018). Genome-Wide Identification and Expression Analysis of the HD-Zip Gene Family in Wheat (Triticum aestivum L.). Genes (Basel). 9(2):70. Available at: http://www.mdpi.com/2073-4425/9/2/70.
25. Singh, A., Roy S., Singh, S., Das, S.S., Gautam, V., Yadav, S., Kumar, A., Singh, A., Sukanya, S., & Sarkar A.K. (2017). Phytohormonal crosstalk modulates the expression of miR166/165s, target Class III HD-ZIPs, and KANADI genes during root growth in Arabidopsis thaliana. Sci. Rep., 7(1):3408. Available at: https://www.nature.com/articles/s41598-017-03632-w.pdf.

SUMMARY

A. Potopalsky, V. Katsan. *New forms and cultivars of the plants, obtaining by the original techlology of accelerated selection// Biological Resources and Nature Managment. – 2018. – **10**, №3–4. – P.72–84. https://doi.org/10.31548/bio2018.03.009*

At present obtaining of the plants cultivars, possessing the high level productivity in the changed climate and the expansion of the potent man-caused influence on the environment is very significant. The methods of the classic selection are not sufficient for the solution of this problem, and the researchers employ further and further to the gene engineering and DNA technologies, having also disadvantages and not enable to reach the desirable result, when the aim is the obtaining of the cultivar to be resistant to the complex of environmental stressors. The original technology of accelerated selection, to be found on the natural mechanisms of the genetic information changing, are elaborated in our laboratory as the result of the investigations, that proceeded for some decades. The aim of the present review is the analysis and the make of resumes of own investigations, dedicated to the obtaining of the new forms of the plants, possessing of heightened adaptability, by exogenous DNAs (e-DNAs) preparations, discovery of the regularities of hereditary changes, induced by the using

of the e-DNAs preparations to obtain the selective important changes in the plants. It is shown the complex and directed character of such changes and the prospects of the using of e-DNAs for the accelerated obtaining of the modern cultivars of agricultural, medicinal and ornamental plants, possessing the increased adaptability. The hypothetical mechanism of e-DNAs action on the plant heredity is proposed.

Keywords: *exogenous DNAs, alkylated DNAs, changes of plants hereditary features, selective important features, resistance to the stressors, phytohormones, homeotic genes, homeobox genes*

АННОТАЦИЯ

А. И. Потопальский, В. А.Кацан. *Новые формы и сорта растений, полученные согласно с оригинальной технологией ускоренной селекции // Биоресурсы и природопользование. – 2018. –* ***10****, №3–4. – С.72–84. https://doi.org/10.31548/bio2018.03.009*

Получение сортов растений, обладающих надлежащим уровнем продуктивности в условиях изменения климата и все возрастающей мощной технологической нагрузки на окружающую среду – одна из наиболее актуальных задач нашего времени. Для решения этой проблемы уже недостаточно методов классической селекции, поэтому исследователи все чаще обращаются к генной инженерии и ДНК технологиям, которые тоже имеют недостатки и не дают возможности добиться желаемого результата, когда ставится цель получить сорт, обладающий устойчивостью к комплексу стрессоров окружающей среды. В нашей лаборатории в результате исследований, которые продолжались несколько десятилетий, разработано оригинальную технологию ускоренной селекции, в основе которой лежат механизмы обмена генетической информацией, существующие в природе. Цель данной обзорной статьи – анализ и подведение итогов собственных исследований, посвященных получению новых форм растений, обладающих повышенным адаптационным потенциалом, при помощи препаратов экзогенных ДНК (э-ДНК), выявление закономерностей наследственных изменений, индуцированных при использовании препаратов э-ДНК с целью получения селекционно ценных изменений у растений. Показан комплексный и направленный характер таких изменений и перспективность применения э-ДНК для ускоренного создания современных сортов сельскохозяйственных, лекарственных и декоративных растений с повышенным адаптационным потенциалом. Предлагается гипотетический механизм действия э-ДНК на наследственность растений.

Ключевые слова: *экзогенные ДНК, алкилированная ДНК, изменение наследственных признаков растений, селекционно ценные признаки, устойчивость к стрессорам, фитогормоны, гомеотические гены, гомеобоксные гены*