

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

МАГІСТЕРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

БОНДАРЕНКО КАМІЛА АНДРІЇВНА

2021 р.

НУБІП України

НУБІП України

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

Факкультет (ННІ) Захисту рослин, біотехнологій та екології

УДК

ПОГОДЖЕНО ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ

Декан факультету (Директор ННІ) Завідувач кафедри

Захисту рослин, біотехнологій та екології Екобіотехнології та біорізноманіття

(назва факультету (ННІ)) (назва кафедри)

_____ Коломієць Юлія Василівна

_____ Кваско Олена Юріївна

“ ” 20 р. “ ” 20 р.

МАГІСТЕРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему «Створення індукованих химер у рослин за іонізуючої радіації
біотехнологічними методами»

Спеціальність _____ 162 «Біотехнологія та біоінженерія»

(код і назва)

Освітня програма _ «Екологічна біотехнологія та біоенергетика»

Орієнтація освітньої програми _____ Освітньо-професійна

(назва) (освітньо-професійна або освітньо-наукова)

Гарант освітньої програми

_____ Керівник магістерської кваліфікаційної роботи

Професор, доктор сільськогосподарських наук Кличенко О.Л.

(науковий ступінь та вчене звання) (підпис) (ПІБ)

Виконав

Бондаренко К.А.

(підпис) (ПІБ студента)

КИЇВ – 2021

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ
Факкультет (ННІ) Захисту рослин, біотехнології та екології

ЗАТВЕРДЖУЮ
Завідувач кафедри Кваско О.Ю

(науковий ступінь, вчене звання) (підпис) (ПІБ)

“ ” 20__ року
ЗАВДАННЯ

ДО ВИКОНАННЯ МАГІСТЕРСЬКОЇ КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ СТУДЕНТУ

Бондаренко Каміла Андріївна

(прізвище, ім'я, по батькові)
Спеціальність — 162 «Біотехнології та біоінженерія»
(код і назва)
Освітня програма Екологічна біотехнологія та біоенергетика

(назва)

Орієнтація освітньої програми Освітньо-професійна
(освітньо-професійна або освітньо-наукова)
Тема магістерської кваліфікаційної роботи
«Створення індукованих химер у рослин за іонізуючої радіації біотехнологічними методами

затверджена наказом ректора НУБіП України від “ ” 20__ р. №

Термін подання завершеної роботи на кафедру
(рік, місяць, число)
Вихідні дані до магістерської кваліфікаційної роботи

Перелік питань, що підлягають дослідженню:

1. Одержання химер у рослин радіобіологічним та біотехнологічним методом.

НУБІП України

2. Опромінення насіння, та калусоутворення на листі, з арахісу який був опромінений.

3. Вплив опромінення на мутацію.

Перелік графічного матеріалу (за потреби)

Дата видачі завдання "____" "____" 20__ р.

НУБІП України

Керівник магістерської кваліфікаційної роботи

(підпис)

(прізвище та ініціали)

Завдання прийняв до виконання _____

(підпис)

(прізвище та ініціали студента)

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

№	Назва поля	Зміст поля
1	Назва роботи	«Створення індукованих химер у рослин за іонізуючої радіації біотехнологічними методами»
2	УДК	602.6:582
3	Автор(ПІБ)	Бондаренко К.А
4	Дата (рік, місяць, день)	29.10.2020
5	Факультет (ННІ)	Захисту рослин, біотехнології та екології
6	Кафедра (шифр, назва)	Екобіотехнології та біорізноманіття
7	Спеціальність	«Біотехнології та біоінженерія»
8	Освітня програма	«Екологічна біотехнологія та біоенергетика»
9	Орієнтація освітньої програми (освітньо-професійна чи освітньо-наукова)	Освітньо-професійна
10	Форма навчання	Денна
11	Тема магістерської роботи	Створення індукованих химер у рослин за іонізуючої радіації біотехнологічними методами
12	Керівник (ПІБ, наукова ступінь, вчене звання)	Професор, доктор сільськогосподарських наук Кляченко Оксана Леонідівна
13	Консультант (якщо є)	
14	Ключові слова (до 10 слів)	Химери, калус, біологічний агент, опромінення
15	Анотація (до 300 символів)**	
Необов'язкові поля		
	Назва поля	Ім'я файлу
	Перелік додаткових матеріалів	.doc
	Архів додаткових матеріалів	.zip

Форма подання переліку додаткових матеріалів		
№	Назва поля	Ім'я файлу в архіві
1	Презентація	.pps
2		

Керівник кваліфікаційної магістерської роботи

(підпис)

Кляченко О.Л

(ПІБ)

РЕФЕРАТ

Агропромисловий комплекс (АПК) - це найбільший міжгалузевий комплекс, який об'єднує різні галузі, орієнтовані на виробництво і переробку сільськогосподарської сировини, отримання і збут готової продукції відповідно до потреб суспільства і попиту населення. У 60-70-і рр. ХХ ст. в світовому сільському господарстві почався технологічне зрушення, який отримав назву агропромислова інтеграція. Агропромислова інтеграція дозволяє подолати недоліки сільськогосподарського виробництва, зокрема, його схильність природно-кліматичних чинників, і включає, таким чином, сільське господарство в загальний процес промислового виробництва. Продукти харчування, вироблені з або з використанням ГМ організмів, часто називають ГМО-продуктами. ГМО-продукти розробляються і надходять на ринок, тому що існують деякі відчутні вигоди або для виробника, або для споживача цих харчових продуктів. Це означає отримання продукту з більш низькою ціною або великими перевагами (в плані збільшення терміну зберігання або поживної цінності) або з обома якостями. Генетично модифіковані організми (ГМО) - це організми (тобто рослини, тварини або мікроорганізми), чий генетичний матеріал (ДНК) був змінений, причому такі зміни були б неможливі в природі в результаті розмноження або природної рекомбінації. Відповідні технології відомі як сучасна біотехнологія, генна технологія, а також технологія рекомбінантних ДНК і генетична інженерія. Вони дозволяють передавати окремі гени від одного організму іншому, а також між несумісними видами. Спочатку ГМО-селекціонери хотіли, щоб їхня продукція була позитивно сприйнята виробниками і тому зробили упор на інновації, які приносять відчутну користь фермерам (і харчової галузі в цілому). [1]

Одна з цілей розробки рослин на основі ГМО полягає в поліпшенні захисту сільськогосподарських культур. В даний час ГМО-культури на ринку головним чином спрямовані на підвищення рівня захисту сільськогосподарських культур за допомогою введення резистентності щодо хвороб рослин, що викликаються комахами або вірусами, або за допомогою підвищення стійкості щодо гербіцидів.

Після Другої світової війни багато вчених намагалися знайти мирне застосування для атомної енергії. Однією з ідей було опромінення рослин для створення безлічі мутацій, завдяки яким можуть з'явитися екземпляри, стійкі до хвороб або мають незвичайне забарвлення. Ці експерименти проводилися в спеціальних гамма-садах на базі національних лабораторій в США, Європі та СРСР. Крім створення ідеальних рослин, вчені також вважали, що атомне землеробство дозволить побороти голод і запобігти новій війні, але з появою ГМО про цей підхід його досягненнях багато хто забув.

Ядерні технології відкривають конкурентоспроможні і часто унікальні рішення, які допомагають в боротьбі з голодом і неповноцінним харчуванням, в

підвищенні екологічної стійкості та забезпеченні безпеки і справжності походження харчових продуктів. Опромінення може застосовуватися для індукції мутацій рослин з метою виведення сортів, що дають продукцію більш високої якості, що мають більш високу врожайність і стабільність врожаю, велику стійкість до зміни клімату і стійкість до несприятливих впливів навколишнього середовища.

ФАО працює в стратегічному партнерстві з Міжнародним агентством з атомної енергії (МАГАТЕ), надаючи сприяння державам-членам у справі безпечного і грамотного використання цих технологій.

У 2021 році ця давнє партнерство було посилене і на базі Спільного відділу було створено Спільний центр ФАО / МАГАТЕ.

Поєднання цих двох напрямків для отримання химер, повинні показати безпечність та високу якість одержаної продукції, а також це може значно прискорити термін культивування рослин.

Для більш якісного одержання дослідного матеріалу можна застосувати технологію культивування рослини, шляхом *in vitro*. Придатною

для культивування *in vitro* вважається невелика ділянка апікальної меристеми розміром не більше 0,1мм, яка практично не містить вірусів. В результаті новітніх досягнень біохімії, біотехнології, зокрема технології рекомбінантних ДНК і комп'ютерної техніки створюються стійкі

сорта сільськогосподарських культур, шляхом включення в процес селекції

генів стійкості від взаємоопилених видів або від неродино-близьких рослин, формування абсолютно нових комбінацій генів. [2]

Актуальність теми. Арахіс був обраний мною, для проведення дослідження, оскільки в історії вже була практика застосування іонізованого опромінення для прискореного росту та розвитку, а також розроблення високого рівня стійкості даної культури до чинників навколишнього середовища. Попит на арахіс росте кожного року, наразі найбільші країни експортери цього продукту є Китай, Аргентина, США та Бразилія. Оскільки для пророщення цієї рослини у них є всі необхідні інструменти. В Україні цей продукт почав набирати популярність за останні 10 років, все частіше та частіше можна побачити різну продукцію з вмістом арахісу, або повністю зі складу арахісу.

Можливість вирощування цієї культури в умовах *in vitro*, може допомогти збільшити конкурентоспроможність нашої держави на світовому ринку.

Переваги цієї культури у тому, що, арахісове масло також застосовується в косметології. У медицині жирне арахісове масло застосовується нарівні з

мигдальним маслом як основа для парентеральних лікарських форм, а насіння арахісу — як замітник насіння солодкого мигдалю при приготуванні емульсії.

[3]

Білок, що міститься в арахісі, добре засвоюється організмом, в бобах міститься багато високоякісних жирів і необхідних організму мінералів і вітамінів. Склад арахісу різноманітний: в ньому присутні вітаміни С, D, E, PP, групи В, магній, кальцій, натрій, фосфор, калій, залізо, мідь, цинк, селен, марганець.

Арахіс зменшує ризик виникнення серцево-судинних захворювань через магній, що міститься в ньому, контролює артеріальний тиск.

Арахіс позитивно впливає на роботу сечостатевої системи, покращує пам'ять, концентрацію уваги, що особливо корисно літнім людям. Також сприяє омолодженню шкіри завдяки фолієвій кислоті та вітаміну Е. ○○

Корисний при хронічній втомі, неврозах і депресії, фізичному виснаженні.

Підвищує імунітет, допомагає у визволенні органів дихання від мокротиння.

Арахіс корисний при діабеті, оскільки контролює цукор крові.

Арахіс допомагає нарощуванню м'язів через великий вміст протеїну.

Сприяє виведенню шлаків і токсинів.

Здатний покращувати згортання крові.

Нормалізує сон і допомагає у виробленні серотоніну.

Метою досліджень було вивчити особливості морфогенезу в культурі ізольованих меристем арахісу (*Arachis hypogaea*).

Для досягнення поставлених цілей необхідно було вирішити такі завдання:

- Підібрати склад живильного середовища для введення в культуру *in vitro*

та індукції морфогенезу ізольованих меристем арахісу;

- Розробити основні етапи технології клонального мікророзмноження арахісу: власне мікророзмноження, укорінення мікропагонів *in vitro* і адаптація мікророслин до умов *in vivo*.

- Підібрати склад живильного середовища для ризогенезу та вивчити вплив

обробки стимуляторами росту на укорінення зелених живців арахісу (*Arachis hypogaea*). [4]

ЗМІСТ

НУБІП України

- Вступ
- РОЗДІЛ ПЕРШИЙ: ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ
- РОЗДІЛ ДРУГИЙ:
 1. РАДОСТИМУЛЯЦІЯ
 2. ХИМЕРИ- ОСНОВНІ ВІДОМОСТІ, ТА МЕТОДИ ОДЕРЖАННЯ
 3. БОТАНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА І БІОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ АРАХІСУ (ARACHIS HYPOGAEA)
 4. МІКРОКЛОНАЛЬНЕ РОЗМНОЖЕННЯ

НУБІП України

- РОЗДІЛ ТРЕТІЙ:
 1. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ
 2. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

НУБІП України

- ВИСНОВКИ

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

ВСТУП

Актуальність теми. Арахіс був обраний мною, для проведення дослідження, оскільки в історії вже була практика застосування іонізованого опромінення для прискореного росту та розвитку, а також розроблення високого рівня стійкості даної культури до чинників навколишнього середовища. Попит на арахіс росте кожного року, наразі найбільші країни експортери цього продукту є Китай, Аргентина, США та Бразилія. Оскільки для пророщення цієї рослини у них є всі необхідні інструменти. В Україні цей продукт почав набирати популярність за останні 10 років, все частіше та частіше можна побачити різну продукцію з вмістом арахісу, або повністю зі складу арахісу.

Можливість вирощування цієї культури в умовах *in vitro*, може допомогти збільшити конкурентоспроможність нашої держави на світовому ринку.

Переваги цієї культури у тому, що, арахісове масло також застосовується в косметології. У медицині жирне арахісове масло застосовується нарівні з мигдальним маслом як основа для парентеральних лікарських форм, а насіння арахісу — як замітник насіння солодкого мигдалю при приготуванні емульсії.
[3]

Білок, що міститься в арахісі, добре засвоюється організмом, в бобах міститься багато високоякісних жирів і необхідних організму мінералів і вітамінів. Склад арахісу різноманітний: в ньому присутні вітаміни C, D, E, PP, групи B, магній, кальцій, натрій, фосфор, калій, залізо, мідь, цинк, селен, марганець.

Арахіс зменшує ризик виникнення серцево-судинних захворювань через магній, що міститься в ньому, контролює артеріальний тиск.

Арахіс позитивно впливає на роботу сечостатевої системи, покращує пам'ять, концентрацію уваги, що особливо корисно літнім людям. Також сприяє омолодженню шкіри завдяки фолевій кислоті та вітаміну E.

Корисний при хронічній втомі, неврозах і депресії, фізичному виснаженні.

Підвищує імунітет, допомагає у визволенні органів дихання від мокротиння.

Арахіс корисний при діабеті, оскільки контролює цукор крові.

Арахіс допомагає нарощуванню м'язів через великий вміст протеїну.

Сприяє виведенню шлаків і токсинів.

Здатний покращувати згортання крові.

Нормалізує сон і допомагає у виробленні серотоніну.

РОЗДІЛ ПЕРШИЙ: ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

Атомне землеробство

До винаходу ГМО вчені намагалися покращити рослини за допомогою гамма-випромінювання, і завдяки таким експериментам ми отримали велику кількість незвичайних культур, які вирощуємо досі.

Активна поява радіоактивних садів пов'язана із запуском програми "Атоми заради миру" на початку 50-х, і в рамках цієї програми на території США,

Європи та СРСР почали створюватись наукові лабораторії, які досліджували

вплив гамма-випромінювання на культури. Згодом опромінені рослини змогли залишити межі наукових комплексів, й у 1959 року в Англії Мюріель Ховорт заснувала Товариство атомних садівників, яке займалося популяризацією атомного землеробства.

Мюріель Ховорт є основним двигуном розвитку цього способу модифікації культур. Вона почала цікавитися атомною наукою ще в 1946 році і приблизно з 1950-го стала експериментувати над рослинами. Вона здобула популярність, як перша людина, яка тримала в руках радіоактивний арахіс, і навіть пообідала їм.

Таким чином вона хотіла показати, що атомні культури безпечні для здоров'я.

Творець арахісу, який був отриманий методом індукованої мутації, є доктор

Уолтон Грегорі з університету Північної Кароліни. У 1958 році професор

опромінив 90 кг арахісу високою дозою радіації за допомогою рентгену та

посадив рослини в університетському саду. Після цього він доглядав арахісу як

звичайну культуру, і в результаті він зміг отримати плоди, які були в 2-4 рази

більше звичайних. Багато колег Грегорі побоювалися цього арахісу і вважали,

що через нього у людини можуть виникнути хвороби, але Мюріель Ховорт з'їла його без будь-яких зафіксованих побічних ефектів.

Іншим ентузіастом атомного землеробства був колишній хірург Кларенс Спіс.

Він жив у місті Ок-Рідж у штаті Теннессі неподалік лабораторії, яка займалася опроміненням рослин. В рамках програми "Атоми заради миру" впродовж

невеликого проміжку часу будь-який громадянин міг звернутися до уряду для отримання **кобальту-60**, який і був основним джерелом гамма-випромінювання в атомному садівництві. Це й зробив Кларенс Спіс. Він побудував невеликий бункер на своїй ділянці і почав опромінювати різні рослини та насіння. У 1958 році він став продавати своє насіння під назвою "Atom-blasted seeds". Вони набули популярності і через три роки в США була створена "перша атомна ферма" поза лабораторіями. Зображення бункеру є на малюнку 1, у додатках (A.1).

Атомні рослини вирощувалися в лабораторіях на круглих полях

Програма "Атоми заради миру" стала своєрідною спробою працевлаштувати велику кількість вчених, які залишилися після Другої світової війни. І для цього за багатьох існуючих наукових комплексів створювалися окремі лабораторії для опромінення рослин.

Процес опромінення культур виглядав так: у центрі знаходився **кобальт-60** у невеликому висувному бункері, а навколо джерела радіації по колу садили різні рослини від полуниці до цукрових буряків. Коли вченим треба було вийти на поле, кобальт опускали під землю у свинцеву фанеровану камеру.

Кругова форма поля з висоти нагадувала знак радіоактивної небезпеки, але це було причиною такої конструкції. Це пов'язано з тим, що вчені хотіли перевірити як різний рівень радіації впливає на рослину, і для цього вони садили однакове насіння на різній відстані від джерела випромінювання.

Рослини і насіння, які росли дуже близько до кобальту-60, просто гинули, а ті, що знаходилися на середній та дальній дистанції, мали велику кількість пухлих, **патогени росту (як з арахісом)** та інші побічні ефекти. Вчені хотіли отримати якнайбільше мутацій, адже завдяки їм можна було б знайти оптимальний рівень радіації для ідеальної рослини.

В основному на гамма-полях вирощувалися персики, виноград, чорниця, цукровий клен, ячмінь, кукурудза, пшениця, фіалки та гладіолуси. Один із

найуспішніших експериментів — це досліди з м'ятою перцевою. В результаті її опромінення з'явилися сорти, які стійкі до грибкових захворювань та в'янення. Найвідоміший із них — Тодд Мітчем. В даний момент він є головним джерелом м'ятного масла, яке так люблять додавати в зубну пасту та жуйку.

Загалом, до 1962 року було виведено дев'ять сертифікованих сортів-мутантів, 1969-го — 77, а 1990 року вже 1200. І більшість із них з'явилася саме завдяки гамма-садам.

Атомні сади знову почали набирати популярності

Середина 20 століття була основним проміжком розвитку атомного землеробства, і багато вчених перестали експериментувати з гамма-випромінюванням після виходу ГМО. Але залишилося кілька лабораторій, які досі продовжують дослідження у цьому напрямі. Наприклад, один із найбільших сучасних атомних садів знаходиться у місті Хітатіомія. Радіус японського гамма-саду становить 100 метрів, і він огорожений 8-метровим парканом. Японські вчені продовжують експерименти з опромінення заради тієї ж мети, що й їхні попередники з 50-х - створення ідеальних рослин. Зображення саду, можна побачити на малюнку 2, у додатках (А.2).

Крім атомного саду в Японії, починають також з'являтися крупні поля у Південній Америці, Південно-Східній Азії та Африці. За словами доктора П'єра Лагоди з Міжнародного агентства з атомної енергії, вчені вигадали нові, більш ефективні методи опромінення рослин, і саме їх намагаються застосовувати в країнах, що розвиваються. Наприклад, у Малайзії з'явилася атомна теплиця, а в Кореї — гамма-фітотрон.

За словами Лагоди, експерименти у сучасних атомних садах вже увінчалися успішними результатами: у Гані створили дерево какао, стійке до вірусів, у

Перу з'явився сорт ячменю, який зростає в Андах, а у В'єтнамі вчені отримали високоврожайний рис. Активне застосування атомного землеробства в країнах,

що розвиваються, не випадкове, адже створити гамма-сад набагато дешевше, ніж спорудити ГМО-лабораторію. [5]

Атомне землеробство дозволило створити велику кількість рослин, які можуть бути адаптовані під різні кліматичні умови. Цей метод показав, що можна

отримати незвичайні, але цілком безпечні продукти за невеликих вкладень. І можливо, смачний яскраво-червоний помідор, який продається в магазині, це сорт який з'явився саме завдяки гамма-випромінюванню. [6]

Спільний проект ФАО та МАГАТЕ

Створення індукованих химер у рослин за іонізуючої радіації біотехнологічними методами. Це новий та інноваційний проект, що наразі популяризується у більшості країн світу, обираючи такий напрям для написання своєї магістерської роботи, я опиралась на результати досліджень які вже є, як окремий вплив іонізуючої радіації на процес мутації у рослин, так і поєднання радіобіологічного та біотехнологічного методу.

На початку 2021 року, всесвітня Продовольча та сільськогосподарська організація ООН (ФАО) разом з МАГАТЕ (Міжнародне агентство з атомної енергії), створило спільний центр ФАО/МАГАТЕ з ядерних методів у галузі продовольства та сільського господарства. [7]

ФАО та Міжнародне агентство з атомної енергії (МАГАТЕ) більше 50 років розширюють знання та розширюють потенціал у цій галузі.

Спільне партнерство ФАО та МАГАТЕ у напрямку вдосконалення селекції рослин та генетики базуються на основі ядерної технології, яка використовується в селекції сільськогосподарських культур, може виробити вдосконалені сорти, які краще адаптуються до кліматичних змін та допоможуть вразливим країнам забезпечити свою продовольчу та харчову безпеку.

Насіння можна опромінювати гамма-променями, рентгенівськими променями,

іонними або електронними пучками для ініціювання генетичних змін. Це збільшення різноманітності дозволяє розширити вибір генетики для методів культивування. Отримані сорти сільськогосподарських культур можуть мати поліпшену врожайність та якість, стійкість до посухи, спеки чи повені, кращу стійкість до шкідників та хвороб або коротший цикл росту.

Ядерні та пов'язані з ними технології забезпечують конкурентоспроможну Спільну програму ФАО / МАГАТЕ, та часто унікальні рішення, які допомагають боротися з голодом, поліпшення екологічної стійкості та забезпечити безпеку та автентичність харчових продуктів, тим самим сприяючи до національних, регіональних та глобальних досягнень 2030 року порядку денного для сталого розвитку. [8]

В своїй роботі я хотіла розглянути можливість збереження структур ДНК рослин, без радикальних змін, методом поєднання технологій радіобіології та біотехнологій. Для можливості отримання наявних культур, з вищим ступенем стійкості до вірусів, хвороб та кліматичних рішень. Наявна проблема змін клімата потребує новаторських методів вирішення проблем у боротьбі зі зменшенні кількості врожаю. Період пандемії, показав наявно, що чим вищий ступінь захисту насіння перед посівом, тим менше потрібно залучати людей до праці в період дозрівання врожаю. На сьогоднішній день дане поєднання методів, дозволяє у майбутньому примножити врожайність та досягти деяких цілей сталого розвитку. А також створити нові сорти рослин, з виключенням, або навпаки включенням різних алергеновмісних компонентів, поживних речовин та кислот.

На сьогоднішній день досить докладно вивчено вплив великих доз радіації на людину та живі організм взагалі, у той час як проблема малих доз радіації, яка також має глобальне значення, поки що досліджена меншою мірою. Міжнародна комісія з радіаційного захисту (International commission on radiological protection – ICRP/МКРЗ) прийняла так звану лінійну безпорогову модель залежності, згідно з якою негативні наслідки опромінення проявляється навіть за невеликої дози

радіації. Однак на даний момент накопичено досить багато даних, що суперечать цій гіпотезі, тому фахівці розробили також порогову модель цієї залежності. Вона говорить про те, що малі дози радіації не мають негативного впливу, але при збільшенні дози ефекти проявляються стрибкоподібно, після проходження певного порогу, який є індивідуальним для кожного живого організму.

Проблема впливу хронічного опромінення на живі організми набула особливої актуальності в контексті досліджень віддалених наслідків катастроф на атомних електростанціях та виробництвах, що призвели до довгострокового радіоактивного зараження великих територій малими дозами радіації. Експериментальні роботи, що проводяться з 1986 року у Чорнобильській зоні, показали, що малі дози суттєво впливають на біоту. Багаторічні спостереження за зростанням та розвитком рослин, що здійснюються міжнародним колективом українських, європейських та російських вчених, та протеомний аналіз показали,

що малі хронічні дози опромінення викликають різні зміни у рослинних організмах.

Селекція

Опромінення може застосовуватися для індукування мутацій рослин з метою виведення сортів, що дають продукцію вищої якості, мають більш високу врожайність і стабільність урожаю, більшу стійкість до зміни клімату та стійкість до несприятливих впливів довкілля. Спільний проєкт ФАО та МАГАТЕ, підтримує держави-члени у використанні методик керованих мутацій для оптимізації біологічної різноманітності рослин.

З 1930-х років з метою прискорення процесу виведення та відбору рослин з новими цінними агрономічними ознаками застосовуються методи мутаційної селекції, що спираються на генетичний склад самої рослини та копіюють природний процес спонтанної мутації. У процесі мутації виникають випадкові генетичні варіанти, що призводить до появи мутантних рослин із новими корисними властивостями. [9]

НУБІП УКРАЇНИ

Класична селекція у найпростішій її формі передбачає вибіркове виведення рослин з бажаними характеристиками та елімінування або "вибраковування" тих, характеристики які менш бажані. Ще одна методика, що отримала назву

"кроссбридинг", передбачає навмисне схрещування близько або віддалено пов'язаних, але сумісних за ознакою батьківських ліній з метою виведення нових сортів сільськогосподарських культур або ліній з бажаними властивостями. Обидві методики передбачають роботу з кількома поколіннями, при цьому для усунення небажаних характеристик і розвитку потрібно п'ять або більше років.

МАГАТЕ спільно з ФАО сприяє державам-членам у розробці та впровадженні ядерних технологій, які за рахунок використання гамма-випромінювання та рентгенівського випромінювання можуть викликати мутацію рослин і цим значно прискорювати процес селекції, залучення методів біотехнології також можна застосовувати з метою ідентифікації, посилення ефекту та відбору необхідних мутацій.

Нарощування темпів роботи без шкоди для довкілля

Мутаційна селекція у разі самоzapильних культур, розмноження яких відбувається за рахунок насіння, заснована на самоzapлідненні (або самоzapиленні) мутантів, доки індукована бажана характеристика не буде стабільно експресуватися в багатьох поколіннях мутантів. Найчастіше для збереження бажаних характеристик потрібне зворотнє схрещування з вихідним мутантним генотипом (частина послідовності ДНК клітини, яка визначає специфічні характеристики).

Мутаційна селекція заснована на індукуванні мутацій та виявленні мутацій. Вона має безліч порівняльних переваг: це економічна, швидка, перевірена і надійна методика. Крім того, ця технологія є широко застосовуваною, безпечною і нешкідливою для навколишнього середовища. На основі понад 210 видів рослин з більш ніж 70 країн офіційно випущено для комерційного використання понад 3200 мутантних сортів, включаючи численні сільськогосподарські

культури, декоративні рослини та дерева (джерело: Спільна база даних ФАО/МАГАТЕ з мутантних сортів).

Рослинні біотехнології відіграють важливу роль у мутаційній селекції. Методи культивування тканин рослин є потужними інструментами, що дозволяють

скоротити час, необхідний для створення ліній мутантів (тобто таких, які стабільно передають конкретні ознаки своєму потомству). Це обмежує використання індукованих мутацій культур, які є рецесивними (у генетиці – коли

одна характеристика гена не експресується, оскільки є експресія іншою, домінантною).

Одним із таких засобів селекції рослин є методика подвійного гаплоїду, яка передбачає подвоєння хромосомного набору гаплоїду – організму або клітини, яка має лише один елемент кожної хромосомної пари.

Іншим методом є визначення молекулярних маркерів, тісно пов'язаних з певними шуканими ознаками, які можуть бути використані для швидкого підтвердження цих ознак. Розробка та розповсюдження таких молекулярних маркерів має

потенціал щодо подальшого зміцнення програм мутаційної селекції рослин, зокрема для основних харчових культур, таких як рис, соняшник, кукурудза,

деяких видів горіхів.

Мутація

Наступний етап мутаційної селекції – це виявлення того, у яких саме рослин з'явилися бажані нові характеристики. Завдяки нещодавнім досягненням у сфері

технологій виявлення можна сприяти різним державам у введенні сільського господарства у справі ефективнішого скринінгу рослин та прискорення

розробки мутантних ліній для комерційного використання. [10]

НУБІП УКРАЇНИ

Виявлення нових індукованих мутацій у ході мутаційної селекції рослин давно є серйозною проблемою. Мутаційні події відбуваються настільки рідко, що для виявлення корисних мутацій потрібно попереднє створення надзвичайно великих популяцій мутантів. Створення, робота і випробування (аналіз), проведені з населенням мутантів, часто обчислюваної багатьма тисячами рослин, – масштабне завдання. Виявлення та вибір з-поміж багатьох мутантів тих рідкісних екземплярів, у яких в результаті мутації з'явилися нові бажані характеристики найчастіше вважається "мистецтвом" мутаційної селекції.

НУБІП УКРАЇНИ

Селекція рослин є наукою, мистецтвом, найрезультативнішим, найдешевшим фактором зростання виробництва продукції рослинництва. За визначенням академіка М.І.Вавилова, селекція – це наука про керування еволюцією культурних рослин, спрямована людиною.

НУБІП УКРАЇНИ

Специфічною функцією селекції є створення нових сільськогосподарських культур для збільшення виробництва та поліпшення якості вирощеної продукції. За сучасних тенденцій підвищення вартості енергозатрат на одиницю виробленої продукції і за наявності проблем, що виникли внаслідок загрозливого забруднення навколишнього середовища, селекції відводиться особливо важлива роль як основному засобу виробництва. Зростання врожайності сільськогосподарських культур за останні десятиріччя на 40–50% зумовлені насамперед впровадженням нових сортів. Сучасні сорти можуть забезпечити урожайність, ц/га: пшениці 130–150, ячменю 100–120, кукурудзи 150–200, сорго 140–180, вівса 80–100, картоплі 1000–1300, цукрових буряків 1300–1500.

НУБІП УКРАЇНИ

Освоєння нових сортів є найвигіднішим заходом підвищення врожайності, забезпечує високу віддачу капіталовкладень у землеробство. В Україні Державний реєстр включає понад 1500 сортів, які належать до 200 видів сільськогосподарських культур з високим потенціалом продуктивності. На жаль, у виробничих умовах високий потенціал урожайності сортів використовується не в повній мірі.

НУБІП УКРАЇНИ

НУБІП УКРАЇНИ

З селекцією нерозривно пов'язане насінництво, яке відображає рівень розвитку і реалізацію досягнень селекції. Основними факторами успішного ведення насінництва є сортова і насінницька технології. За сучасних умов розвитку сільськогосподарського виробництва, з

НУБІП УКРАЇНИ

утвердженням різних форм власності роль насінництва зростає. Воно повинно розвиватися на промисловій основі.

МАГАТЕ спільно з ФАО зміцнює потенціал держав-членів щодо підвищення ефективності необхідних методів скринінгу і, тим самим, прискорення перетворення мутантних ліній сільськогосподарських культур на комерційні сорти, використовувані фермерами.

НУБІП УКРАЇНИ

Процес ідентифікації та відбору мутантних рослин з покращеними якостями включає два основних етапи: скринінг мутантних рослин і підтвердження (також іменоване валідацією мутанта). Ще з часів одомашнення рослин скринінг за візуальними характеристиками (фенотипи) був найбільш поширеним методом селекції рослин з метою відбору культур з найкращими характеристиками.

НУБІП УКРАЇНИ

Протоколи скринінгу на предмет таких характеристик, як солестійкість у гідропоніці (метод вирощування рослин з використанням мінеральних поживних розчинів без ґрунту), посухостійкість або протоколи скринінгу захворювань є ефективними методами виявлення мутантних фенотипів. [1]

НУБІП УКРАЇНИ

Одним з таких інструментів є скринінг генотипу, при якому відмінності в генетичному складі (генотипі) окремо взятих рослин можуть визначатися за допомогою окремої послідовності ДНК з використанням біологічних тестів (тип наукового експерименту) та порівняння з іншою послідовністю або з еталонною послідовністю. За допомогою цього інструменту можна визначити варіацію, яка пов'язана та успадкована спільно з шуканою характеристикою.

НУБІП УКРАЇНИ

Нещодавні досягнення у сфері високопродуктивних технологій виявлення мутацій, таких як секвенування повного геному, підвищили ефективність ідентифікації змін ДНК, які породжують нові характеристики. При цьому

можуть бути розроблені такі молекулярні маркери, які допомагають селекціонерам прискорювати процес застосування бажаної ознаки в інших комерційних сорти. Інші ефективні високопродуктивні методи скринінгу індукованих делецій ДНК -структурна мутація (хромосомна аберация), при якій вилучається частина хромосоми або послідовність ДНК. Включають зворотні генетичні методи, такі як TILLING (введення індукованих локальних ушкоджень у геномах), які дозволяють проводити прицільну ідентифікацію мутацій у певному гені.

Комерційні культури мають дуже тонку генетичну основу, що робить їх вразливими для екологічних небезпек. Метод індукування мутацій стає все більш важливим для формування успадкованих змін у рослинах та відкриває шлях до нових генетичних різновидів для рослинників.

Генетичне розмаїття рослин одне із найважливіших ресурсів виробництва продовольства і ведення сільського господарства. Тисячі видів культур та їх родинних дикорослих сортів зумовлюють генетичну мінливість, від якої залежить виробництво продовольства у всьому світі. Протягом тисяч років люди використовували генетичні ресурси рослин для виробництва продовольства та сільськогосподарської продукції, розробляли їх та залежали від них.

Проте все більшу стурбованість викликають темпи втрати генетичних ресурсів. Через поступове зниження обсягу цих ресурсів людство втрачає потенціал для адаптації до нових соціально-економічних та екологічних умов.

Застосування методу створення мутацій рослин шляхом опромінення насіння чи індукованого мутагенезу налічує майже сто років. Це перевірена, безпечна, надійна та економічна стратегія селекції рослин, а види сільськогосподарських культур, що виходять в результаті, роблять істотний внесок у справу безпеки харчових продуктів та продовольства у глобальному масштабі.

Така селекція, сприяє у розробці та впровадженні технологій, заснованих на ядерних та біотехнологічних методах, таких як методика індукування мутацій з

НУБІП УКРАЇНИ

тим, щоб оптимізувати біорізноманіття рослин та генетичних ресурсів, які сприяють інтенсифікації виробництва сільськогосподарських культур та збереженню природних ресурсів.

Розширення генетичної бази шляхом мутаційної селекції

НУБІП УКРАЇНИ

Підтримка біорізноманіття є предметом глобальної відповідальності. Усвідомлюючи важливість біорізноманіття для виробництва харчових продуктів та ведення сільського господарства, у 1983 році ФАО заснувала Комісію з генетичних ресурсів для виробництва продовольства та ведення сільського господарства. Комісія є постійним форумом, в рамках якого уряди проводять обговорення та досягають домовленостей щодо того, яким чином слід забезпечувати збереження генетичних ресурсів для виробництва продовольства та ведення сільського господарства та їх етичне використання, а також справедливий та рівний доступ до цих благ для нинішніх та майбутніх поколінь.

НУБІП УКРАЇНИ

Ще одним дієвим інструментом є **Міжнародний договір про рослинні генетичні ресурси для виробництва продовольства та ведення сільського господарства, укладений у 2001 році**. Договір є всеосяжною міжнародною угодою, метою якої є забезпечення продовольчої безпеки шляхом збереження, обміну та сталого використання генетичних ресурсів рослин у світовому масштабі для виробництва продуктів харчування та ведення сільського господарства. Щоб повною мірою реалізувати його потенціал, необхідно застосовувати відповідні наукові та технологічні інструменти для виведення нових сортів рослин.

НУБІП УКРАЇНИ

Індукований мутагенез сприяє розкриттю м'якого потенціалу та допомагає селекціонерам отримувати сировину, необхідну для створення бажаних "розумних" сортів сільськогосподарських культур. Ця методика дозволяє створювати безліч можливих (загально визнаних) мутантів, які підвищують біорізноманіття. Генетична варіація, досягнута завдяки біорізноманіттю генетичних ресурсів рослин, допомагає вирішити багато проблем селекції

рослин. Основними цілями селекції рослин є покращення сортів сільськогосподарських культур з погляду врожайності, якості, адаптації до зміни клімату та біотичного (живого) та абіотичного (неживого) стресового фактора в екосистемі.

Застосування індукованого мутагенезу для арахісу

Для посушливих регіонів, у лабораторії спільного центру FAO та MAGATE був розроблений з використанням ядерних методів за підтримки MAGATE та у співпраці з Продовольчою та сільськогосподарською організацією Об'єднаних Націй (FAO), та виведений сорт арахісу, що покращить матеріальний добробут і збільшить експорт арахісу в умовах посухи. Цей новий сорт продемонстрував до 27% більшу врожайність при меншому споживанні води, внаслідок чого потенційно доходи фермерів можуть подвоїтися.

З арахісу, також відомого як земляний горіх, зазвичай вичавлюють масло, його також використовують у різних стравах місцевої кухні, включаючи салати, супи та рагу. Його листя та стебла, а також макуха горіхів широко застосовують для годування худоби. [12]

Пілотний проект, з використанням нового сорту арахісу, був запроваджений у вирощування в посушливих регіонах Судану. Фермери в посушливих районах раніше вирощували менше арахісу, оскільки вони вважали місцеві кліматичні умови непридатними для цієї культури, — додаючи, що натомість їм доводилося покладатися таку менш прибуткову продукцію, як кавуни. Завдяки цьому новому сорту вони вперше побачили, що арахісові культури можуть рости та давати високі врожаї навіть за суворих умов.

Раніше Судан був одним із провідних світових експортерів арахісу, проте останніми роками його частка скоротилася. На традиційне мале фермерство у західних провінціях припадає 70% всього виробництва арахісу у Судані. Оскільки вирощування арахісу залежить від опадів, дуже сильні посухи у цих регіонах значно впливають на здатність фермерів отримувати високі врожаї.

НУБІП УКРАЇНИ

В даний час уряд прагне відновити свої позиції як один з основних експортерів і одночасно поліпшити умови життя фермерів, які займаються натуральним господарством. Для досягнення цієї мети необхідно мати такий сорт сільськогосподарської культури, який міг би давати високі врожаї у цих посушливих районах. Після десяти років досліджень на сільськогосподарській дослідницькій станції в Ель-Обейді міністерство сільського та лісового господарства Судану у 2018 році представило сорт під назвою «**Тафра-1**» і в даний час займається розмноженням його насіння, щоб забезпечити ними максимально велику кількість фермерів.

НУБІП УКРАЇНИ

Виведення нового сорту

Вчені використали опромінення як перший крок у селекції рослин для створення цього нового гатунку. Опромінення прискорює зміни в генетичній структурі сільськогосподарських культур, тому вчені можуть вибирати лінії з бажаними характеристиками, такими як стійкість до посухи, щоб зрештою отримати найкращий сорт. Для адаптації сільськогосподарських культур до змін навколишнього середовища шляхом мимовільної мутації і природного відбору може знадобитися кілька століть, а опромінення прискорює цей процес. Саме тому цей сорт отримав свою назву: слово тафра в арабській мові означає мутант.

МАГАТЕ у співпраці з ФАО надає підтримку країнам, включаючи Судан, адаптації їх методів ведення сільського господарства до змін клімату.

НУБІП УКРАЇНИ

Зміна клімату завдає все більшої шкоди сільському господарству, наражаючи на ризик виробництва продовольства в різних частинах світу, включаючи Судан, зазначає у своїй доповіді Фатма Сарсу, селекціонер та генетик з Об'єднаного відділу ФАО/МАГАТЕ з ядерних методів у продовольчій та сільськогосподарській областях.

НУБІП УКРАЇНИ

Збільшення сільськогосподарського виробництва та продуктивності на додаток до адаптації сільськогосподарських культур до змін клімату має вирішальне значення для забезпечення продовольчої та харчової безпеки. Наша спільна

робота щодо створення нового сорту арахісу сприяла адаптації сільськогосподарських культур до зміни клімату в посушливих регіонах, і при застосуванні цього сорту в пілотному проєкті на прикладі Судану, селекціонери в цьому переконалися.

Підтримка MAGATE в рамках програми технічного співробітництва включала надання стипендій, організацію навчальних курсів та постачання обладнання, такого як укриття для захисту земельних ділянок від опадів та система дощового зрошення. MAGATE також надало підтримку Судану, направивши міжнародних експертів для надання допомоги у виведенні, оцінці та відборі покращеного сорту арахісу.

У ритмі співпраці

Під час проведення пілотного проєкту, вчені-дослідники повинні були вивести відразу кілька потенційних сортів, але саме фермери повинні були вирішити, які з них найкраще підходять для вирощування на їх полях.

Селекціонери та науковці залучили фермерів на ранніх стадіях дослідницького процесу, щоб насправді вони могли вибрати сорт, який найкраще відповідає їхнім потребам. Цей процес досліджень, орієнтований на попит, дає більше шансів на те, що фермери приймуть і будуть використовувати сорт після того, як він буде виведений. [13]

Для оцінки результатів у семи селах провінції Північний Кордофан, Судан найуразливіший регіон до посухи в, фермери тестували протягом чотирьох років кілька сортів арахісу, відстежуючи результати за допомогою дослідників.

Вони шукали конкретні бажані характеристики, такі як висока та стабільна врожайність у різних кліматичних умовах та стійкість до найпоширенішого виду посухи у регіоні — посусі наприкінці сільськогосподарського сезону, у період, коли вона збігається із закінченням вегетаційного періоду, тобто, коли арахісові рослини майже дозріли.

Зрештою, фермери та дослідники дійшли одного й того ж висновку: сорт «Тафра-1» став явним переможцем за його здатністю переносити посуху та давати високі врожаї за малої кількості опадів.

Унікальність та основний механізм отриманого сорту: білок F-box є важливою субодиницею комплексу SCF, лігази E3 в системі убіквітину, його функція визначається шляхом опосередкування специфічного розпізнавання та поєднання з білком субстрату. TaFRA (F-box protein, пов'язаний з абіотичним стресом) був ідентифікований RACE на основі фрагментів, які по-різному експресуються в проростках арахісу, підданих сольовому стресу, і кодує білок F-box. У цьому дослідженні було сконструйовано вектор експресії приманки pBD-TaFRA, і кДНК+pGAD+pBD безпосередньо котрансформували в гібридну систему для скринінгу білків-кандидатів, що взаємодіють з TaFRA. Було отримано 44 білки-кандидати, у яких 32 були відомі білки та фактори транскрипту, пов'язані зі стійкістю до стресу, такі як тіоредоксин, металотіонеїн, АТФ-синтез та серин/треонін протеїн-кіназа, тощо. Це вказує на те, що TaFRA бере участь у реакції на стрес, регулюючи вищевказані умови генів, які стають основою для розкриття механізму реакції TaFRA на абіотичний стрес. Механізм зображено, на малюнку 2 у додатку (A.2).

Вигода для фермерів та для економіки

Новий сорт можна вирощувати за кількості опадів менше ніж 250 мм на рік порівняно з 350 мм, необхідними для традиційного сорту. Крім того, він дає врожайність, яка в середньому на 11% вище, ніж у традиційного сорту (1024 кг з гектара порівняно з 926 кг з гектара), а в деяких місцях в ході тестів, що проводилися протягом останніх трьох років, відзначалося підвищення врожайності на 27%. [14]

Вищі врожаї означають більш високі доходи для дрібних фермерів. Оцінки врожайності різних вегетаційних періодів та в різних місцях показують, що при використанні нового сорту фермери, які вирощують арахіс, можуть додатково отримувати до 28 дол. США з гектара за один урожай. Це значне збільшення,

НУБІП України
враховуючи ту обставину, що в середньому дохід фермера за сезон вирощування арахісу становить приблизно 26 дол. США з гектара.

На цей час цим сортом засіяно вісім гектарів, і міністерство сільського та лісового господарства працює над тим, щоб розмножити насіння для

НУБІП України
використання у широких масштабах. Тим часом висока продуктивність цього сорту спонукала фермерів і самостійно зайнятися розмноженням цього насіння. Незабаром цього насіння буде досить багато для поширення.

Тим часом МАГАТЕ продовжує підтримувати проекти в країнах, спрямовані на

НУБІП України
подальше підвищення врожайності сільськогосподарських культур та покращення умов життя дрібних фермерів у районах, що зазнають посухи та кліматичних криз. Оскільки продемонстрований успіх від врожайності нового

сорту земляного горіха «Тафра-1», але подальше розмноження сортового насіння

НУБІП України
та розширення інформаційно-просвітницької роботи має життєво важливе значення для масштабування позитивного впливу на економічне становище населення.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

РОЗДІЛ ДВА:

1.1 РАДІОСТИМУЛЯЦІЯ

Як раніше згадувалося, при опроміненні рослинних об'єктів з використанням слабких доз іонізуючої радіації спостерігається ефект радіостимуляції, що виявляється в прискоренні росту, розвитку, підвищенні біомаси, а також у зміні якості та структури врожаю багатьох видів рослин.

Радіостимуляція може бути викликана найрізноманітнішими способами променевого впливу: передпосівним замочуванням насіння в розчинах радіоактивних речовин відповідних концентрацій, опроміненням насіння ззовні рентгенівськими або гамма-променями, внесенням випромінювачів у ґрунт, а також хронічним опроміненням рослин у процесі вегетації.

Для практичного використання радіостимуляції в сільському господарстві та селекції найбільш прийнятним є метод передпосівного опромінення насіння ззовні та опромінення вегетуючих рослин на гамма-полях.

Крім радіостимуляції попереднє опромінення в слабких дозах у ряді випадків надає захисну дію до подальшого опромінення сублетальних дозах. Цей феномен відзначений багатьма дослідниками на тваринах.

Є дані про прояв радіозахисної дії попереднього опромінення та на рослинах.

Розглянуті результати дослідів з насінням арахісу свідчать, що попереднє опромінення сухого насіння у відносно слабких дозах гамма-випромінювання підвищують їхню радіорезистентність до подальшого опромінення в сублетальних дозах. У цьому радіозахисний ефект позначається як прояві зовнішніх ознак розвитку рослин (швидкість проростання, схожість насіння, збільшення ваги рослин), а й у зниженні променевого ураження генетичних структур. Оскільки дози опромінення, що викликають радіозахисний ефект, знаходяться в межах діапазону стимулюючих доз як насіння арахісу, можна вважати, що радіобіологічні ефекти радіостимуляції і підвищення радіорезистентності під впливом попереднього опромінення в малих дозах

регулюються єдиним механізмом. Очевидно, радіостимуляція проявляється у прискоренні зростання, розвитку та збільшення біомаси рослин, а й у підвищенні радіорезистентності насіння до наступного опромінення.

На жаль, механізми, що лежать в віску явища радіостимуляції, все ще недостатньо зрозумілі. Наявне щодо цього різні уявлення докладно розглянуті в монографії Н. М. Березіної (1964). Можна сподіватися, що детальне вивчення прояву радіозахисної дії малих доз випромінювань на насінні добре вивчених у радіобіологічному відношенні рослин допоможе надалі глибше зрозуміти механізми стимулюючої дії радіації. [15]

Кобальт-60

Кобальт-60, радіокобальт – радіоактивний нуклід хімічного елемента кобальту з атомним номером 27 і масовим числом 60. У природі практично не зустрічається через малий період напіврозпаду. Відкритий наприкінці 1930-х років Г. Сіборг і Дж. Лівінгуд в Каліфорнійському університеті в Берклі. Активність одного грама цього нукліду становить приблизно 41,8 ТБк. Кобальт-60 є довгоживучим з радіоактивних ізотопів кобальту, має важливі практичні застосування. Кобальт-60 отримують штучно, піддаючи єдиний стабільний ізотоп кобальту ^{59}Co бомбардування тепловими нейтронами (в ядерному реакторі або за допомогою нейтронного генератора). Кобальт-60 використовується у виробництві джерел гамма-випромінювання з енергією близько 1,3-8 МеВ, які застосовуються для:

- стерилізації харчових продуктів, медичних інструментів та матеріалів;
- активації посівного матеріалу (для стимуляції зростання та врожайності зернових та овочевих культур);
- знезараження та очищення промислових стоків, твердих та рідких відходів різних видів виробництв;
- радіаційної модифікації властивостей полімерів та виробів з них;
- радіохірургії різних патологій ("кобальтова гармата", гамма-ніж);
- дистанційної та внутрішньопорожнинної гамма-терапії;

- гамма-дефектоскопія;
- визначення консистенції (щільності) рідких сумішей, що перекачуються по трубопроводах, у складі приладів-консистометрів (вимірників щільності);

- у системах контролю рівня металу в кристалізаторі при безперервному розливанні сталі.

1.2 ХИМЕРИ- ОСНОВНІ ВІДОМОСТІ, ТА МЕТОДИ ОДЕРЖАННЯ

Рослини з генетично різними клітинами, групами клітин чи тканинами зазвичай називають химерами. Химерні рослини зустрічаються в природі як наслідок спонтанно (випадково) мутацій, що виникають.

Останні десятиліття з'явилися різні можливості цілеспрямованого їх створення.

Сучасні методи одержання химер досить різноманітні: щеплення, вплив колхіцином (отримання химер з клітинним набором, що містить різну кількість хромосом), опромінення, дію різних хімічних мутагенів. Схема взаємного розташування тканин у щеплених химерах різних типів зображена на малюнку 4, у додатку (А.4).

Щеплювальні химери утворюються з вірослих придаткових бруньок, що з'являються в місці з'єднання підщепи і щепи пагонів. Такі щеплені химери є змішання тканини підщепи з тканиною щепи з формуванням цілого дерева, а в деяких випадках навіть плодів. У мериклінальній щепленій химері один або більше шарів сектора клітин підщепи або щепи оточують тканину щепи або підщепи. У секторіальній щепленій химері є сегменти стовбура, що складаються з тканини щепи і з тканини підщепи, що простягаються від місця з'єднання по стовбуру та гілкам до листя. Листя і плоди, що походять з нирок на лінії зіткнення сегментів підщепи та щепи, можуть мати сегменти тканини підщепи і тканини щепи. Листя і плоди, що утворилися з нирок, розташованих повністю на сегментах тканини однієї щепи, будуть такими ж, як і у підщепи, в той час як листя і плоди, що утворилися з нирок, розташованих повністю на сегментах тканини однієї щепи, будуть такими ж, як у щепи. У мериклінальних щеплень

химер тканина щепи або щепи частково оточує тканину щепи або підщепи. У цьому випадку листя та плоди можуть піддаватися таким же впливам, як листя та плоди секторальної щеплень химери, дежні з листя та плодів можуть мати

сегменти тканини обох видів. Якщо мутація відбувається не в зачатку плода (не в молодому плоді, а в нирці або в іншій меристематичній тканині втечі,

виникають химерні втечі. У цих випадках точно так само можуть утворюватися секторальні, мериклінальні і периклінальні химери. Якщо на ділянці, що мутувала тканини секторальної виникає нирка, то втеча, що утворюється з неї,

міститиме нову спадкову ознаку. У мериклінальних химер, які, безсумнівно,

зустрічаються частіше, в порівнянні з секторальними, з таких нирок виростають

пагони, що мають характер периклінальної химери, коли з самого початку є периклінальна химера, виникають пагони, що виявляють нову ознаку в чистому

вигляді і незалежно від старих. У таких випадках говорять про ниркові мутації, а

в садівницькій літературі про виникнення спорту. з другом Якщо новоутворення

відокремиться на втечі в чистому вигляді або у формі периклінальної химери, то його можна розмножувати шляхом щеплення. Цим шляхом поряд з існуючими старими сортами виникають їх різновиди – клони.

Вчені на основі вивчення тканин всіх спонтанних і штучних химер, що

зустрічаються у рослин, підрозділили їх на 3 типи. Якщо одна тканина (стара або нова, мутована) знаходиться в оболонці, що складається з іншої тканини, така химера називається периклінальною. Якщо тканина, що знову виникла, може

лежати серед старої у формі клиновидно всунутої ділянки, така химера

називається секторальною. Якщо мутована тканина міститься лише у кількох зовнішніх шарах сектора, то така химера називається мериклінальною. На рис. 1

схематично показано розташування мутованої та старої тканини на поперечному

розрізі стебла для різних типів химер. У щеплених химерах як інша, відмінна від

тканин щепи, виступає тканина підщепи.

Химери – організми, які складаються з клітин більш ніж одного генотипу – захопили людську увагу задовго до того, як були офіційно описані та використані

НУБІП УКРАЇНИ

в лабораторії. Ці організми зобов'язані своїм тезкою вогнединому монстру з грецької міфології, який має голову лева, тіло кози та хвіст змії. Перший опис невігданої химери датується серединою сімнадцятого століття, коли

флорентійський садівник П'єтро Наті виявив випадковий пагін, що виростає з стику щеплення між кислим апельсином (*Citrus aurantium*) і цитроном (*Citrus medica*). Ця дивовижна химера, яка росте із секторами, фенотипно схожими на кожен із прабатьків цитрусових, викликала обговорення та здивування в науковому співтоваристві, і була доречно названа «Bizzaria». Спочатку

вважалося, що «Bizzaria» є безстатевим гібридом, який утворився в результаті

злиття клітин між щепленими батьками; однак глибокий клітинний аналіз, проведений століттями пізніше, продемонстрував, що «Бізарія», разом з іншими химерами, зобов'язані своїм унікальним секторним виглядом конгломерату

клітин від двох донорів. Після цього ключового відкриття на рубежі двадцятого

століття химери слугували і інструментами, і унікальними біологічними явищами, які сприяли нашому розумінню розвитку рослин на клітинному, тканинному та організмовому рівнях. Швидкий прогрес у технологіях секвенування генома дозволив створити нові модельні види з новими

морфологічними особливостями та особливостями розвитку, які дозволяють

генерувати химерні організми. У цьому огляді ми показуємо, що дослідження генетичної мозаїки та химери надають технологічно простий спосіб заглибитися у внутрішню роботу організму, генетичну та геномну роботу, що лежить в основі розвитку різноманітних модельних організмів. Більше того, ми обговорюємо

унікальну можливість, яку химери надають для дослідження універсальних принципів, що керують міжклітинною комунікацією та координацією біології організму в гетерогеномному ландшафті. [16]

Химерний і мозаїчний аналіз використовувалися задовго до появи молекулярної

генетики для дослідження фундаментальних принципів, які керують зростанням і розвитком організму. Швидке випуск нових модельних організмів, які ще не охарактеризовані на самому базовому рівні, і розвиток молекулярних методів, які дозволяють розрізняти гетерогеномні взаємодії, вимагають повторної появи

НУБІП УКРАЇНИ

цих класичних інструментів і повторного відвідування для вивчення молекулярної координації, яка лежить в основі розвитку рослин з використанням химерного та мозаїчного підходів. Ми починаємо цей огляд з

НУБІП УКРАЇНИ

визначення гетерогеномності; потім ми розглядаємо історичний контекст концепції химери, описуємо експериментальні підходи для отримання химер і мозаїк і, нарешті, обговорюємо майбутнє того, як дослідження химер і мозаїки можуть змінити наш погляд на біологію організму.

НУБІП УКРАЇНИ

Термін «гетерогеномний» відноситься до організмів, які містять гетерогенний геном. Гетерогеном можна використовувати для опису гібридів і алополіплоїдів, у яких незалежні геноми розміщені в одному ядрі, а також химери, генетичні мозаїки та гетерокаріотичний стан, при якому гетерогенні геноми розміщені в окремих ядрах. Тут ми зосереджуємось на останньому випадку гетерогеномності

НУБІП УКРАЇНИ

та, зокрема, обговорюємо два типи гетерогеномних організмів: (1) химери, які утворюються з конгломерату клітин, що виникли з окремих зигот, та (2) генетичні мозаїки, які ініціюються з однієї зиготи і згодом індукуються або мутують в гетерогеномний стан (Rossant and Spence, 1998). Щеплені рослини, які

НУБІП УКРАЇНИ

утворюються шляхом фізичного з'єднання окремих частин рослини, є ще одним класом гетерогеномних організмів, які ми не обговорюємо в цьому огляді через нещодавню публікацію кількох інших оглядів на цю тему.

НУБІП УКРАЇНИ

Химери протягом століть інтригували та спантеличували наукову спільноту.

НУБІП УКРАЇНИ

Спочатку визнані «спортивними» (фенотипно відмінні гілки, що виникають під час вегетативного розмноження), описи химер вперше з'явилися в садівничій літературі в 1674 році, коли флорентійський садівник П'єтро Наті виявив «Bizzaria», що росте з прищепленого з'єднання *Citrus aurantium* і *Citrus medica* (рис. 1A і B; Tilney-Bassett, 1986; Nati, 1674). Неодноразова поява незвичайних

НУБІП УКРАЇНИ

видів спорту, що виростають із стиків щеплень від різних комбінацій видів, викликала інтерес наукового співтовариства та породила широкі спекуляції щодо природи генетичної спадковості та гібридизації рослин. У своїй книзі «Варіанти рослин і тварин під час одомашнення» Дарвін запропонував теорію

«гібридів щеплення», згідно з якою донори підщепи та прищепи можуть зливатися на місці з'єднання щеплення, щоб безстатевим шляхом створити новий гібрид (рис. 1C; Дарвін, 1868).

Пізніше теорія трансплантата і гібриду була спростована і замінена гіпотезою трансплантата-химери після двох основоположних спостережень на початку двадцятого століття (рис. 1D; Tinney-Bassett, 1986). По-перше, Вінклер (1907) експериментально створив види спорту на стику прищеплень між двома видами

пасльонових, *Solanum nigrum* і *S. lycopersicum*, намагаючись повторити відкриття Наті і розібрати організаційну основу спорту, викликаного щепленням.

Хоча більшість бруньок нагадували одного з батьків, був один винятковий вид спорту, який виріс у вигляді поздовжнього розрізу двох батьків, чітко вказуючи, що він виник як конгломерат, а не злиття клітин двох видів. Натхнений

вогнедихаючим грецьким монстром, що складається з голови лева, тіла кози та

хвоста змії, Вінклер прийняв термін «Химера», щоб описати свою морфологічну аномалію. Вінклер (1909) також виділив кілька пагонів, які росли як фенотипові проміжні між двома батьками, які, на його думку, були продуктами клітинного

злиття між видами-попередниками, і таким чином припустив, що на підщепі

можуть утворюватися як щеплені гібриди, так і щеплення-химери. - з'єднання

нащадків. Відповідно до роботи Вінклера, Баур (1909) провів серію незалежних

експериментів, відстежуючи спадковість хлорофілу в різнокольорових перах,

що привело його до запропонування моделі, в якій зрілі тканини всередині

пагона можна простежити до клонально відмінних шарів від апікальної

меристеми пагона (SAM). Дотримуючись гіпотези Баура, практично кожен вид

спорту, включаючи фенотипічні проміжні продукти Вінклера, можна описати як

гетерогенне розташування клітин усередині SAM, що заперечує подальше

серйозне розгляд концепції трансплантата-гібриду.

Століття по тому гіпотеза прищепленого гібриду була знову активізована;

Експерименти з відстеженням клітинної динаміки комбінацій флуоресцентно

позначених підщепи-щепки продемонстрували, що клітинне та ядерне злиття

справді відбувається в рідкісних випадках на з'єднанні трансплантата і насправді може служити шляхом для нестатевого генерування апонеліплоїдів (Stegemann and Bock, 2009, Stegemann et. in., 2012, Тісен та ін., 2012, Фуентес та ін., 2014).

Хоча переважна більшість видів спорту, викликаних прищепленням, є химерами, ця повторна поява концепції трансплантата-гібриду є свідченням трансформаційної сили, яку можуть мати сучасні методи, коли їх застосовують до класичних питань. Саме в цьому світлі ми відкриваємо наш огляд, знову відкриваючи стару тему для сучасного розбору.

Класифікація химер і генетичних мозаїк

Химери та генетичні мозаїки можна класифікувати за розташуванням їхніх генетично відмінних типів клітин, а також за природою їх походження. Маркери, які дозволяють відрізнити генотипно відмінні клітини одна від одної, зробили химери та генетичні мозаїки надзвичайно корисними для виконання аналізу клітинної лінії, в якому окрема клітина та її нащадки відстежуються з навколишнього популяції немаркованих клітин, а також для відокремлення клітини. функції автономних генів (в яких на клітинну ознаку впливає генотип цієї клітини) від функцій неклітинних автономних генів (у яких на клітинну ознаку впливає генотип інших клітин). Спочатку ці маркери склалися з відмінностей у наявності або відсутності пігментації (наприклад, антоціанів або хлорофілу) або, рідше, цитологічних ознак, таких як плоїдність геному або хромосомні перебудови (Brumfield, 1943). Через ці обмеження переважна більшість досліджень клітинної лінії спочатку були обмежені багатими хлорофілом системами пагонів.

Перш ніж заглибитися в класифікацію химер, необхідно дати короткий огляд будови апікальної меристеми пагона (SAM). Архітектура SAM змінилася під час еволюції наземних рослин (Steeves and Sussex, 1989). SAM мохоподібних (печінояниці, мохи та роговики) і безнасінних судинних рослин (папоротей і лікофітів) зазвичай містять одну помітну початкову клітину або в певних лініях (*Lycorodium* та *Isoetes*), множину, непомітні ініціали. Більшість насінневих

рослин мають оболонки-корпуси SAM, які організовані в клонально відмінні клітинні шари з зовнішніми шарами «туніки», що поділяються антиклінально, і внутрішнім шаром «корпус», який поділяється як антиклінально, так і

периклінально (Schmidt, 1924, Satina et al., 1940). Голонасінні зазвичай мають один шар оболонки, тоді як більшість покритонасінних мають два шари (Porham, 1951). Ці клонально відмінні клітинні шари сприяють утворенню окремих тканин всередині новоутворених бічних органів, які утворюються вздовж флангів SAM. У листках більшості, але не всіх покритонасінних рослин,

зовнішній шар меристеми (L1) утворює безбарвний епідермальний покрив, другий шар меристеми (L2) утворює субепідермальний палеадний мезофіл і абаксіальний губчастий мезофіл, а внутрішній корпус (L3) утворює глибокий мезофіл і судинну тканину (огляд в Tilney-Bassett (1986)). Таким чином, рослини,

які складаються з гетерогенних клітин у SAM, можна класифікувати на основі генетичного складу їхніх шарів меристеми пагонів: (1) периклінальні химери, які мають однорідний, генетично відмінний шар клітин у апікальній меристемі пагона (SAM) (мал А.5.А), (2) мериклінальні химери мають гетерогеномну популяцію клітин в межах одного шару SAM (мал А.5.В), а секторні химери мають або гетерогеномну популяцію клітин, що перетинають кілька шарів SAM

(мал А.5.С), або мають гетерогеномні ділянки клітин без малпенка (мал А.5.Д).

Існує широкий спектр методів, які доступні для створення периклінальних, мериклінальних і секторальних химер. Деякі методи надзвичайно доступні й

використовувалися протягом століть, тоді як інші передбачають передові трансгенні методи (Таблиця А.6). Решта цього огляду не тільки висвітлює методи створення химер і генетичної мозаїки, а й обговорює біологію цих унікальних організмів, те, як вони сформували сучасний розвиток рослин, і їхній потенціал для трансформації майбутніх застосувань у поєднанні з новими технологіями.

Отже, химери виникають внаслідок випадкових мутацій (або індукованих якимись факторами зовнішнього середовища). Формально до химер можна відносити будь-які щеплені рослини (а такі зараз займають 90 відсотків). Виникає

химерний організм або у процесі злиття двох запліднених яйцеклітин на перших етапах розвитку (тетрагемітичний химеризм), або злиття зародка з тілом материнського організму (мікрохимеризм), або (у рослин) внаслідок вегетативних мутацій у точці зростання.

Найбільш помітні химерні мутації в рослинах найчастіше пов'язані появою білих або жовтих зон на листі рослин. На відміну від мозаїчності (викликані, наприклад вірусами) або хлоротичності (симптом дефіциту живлення), химери - безсистемні. Знебарвлюються значні ділянки площі окремих листів, на окремих частинах рослини, симптоматика не поширюється на сусідні рослини.

Химери в наслідок гамма опромінення

Багато сторін життєдіяльності рослинного організму схильні до змін після опромінення в досить високій дозі. Хромосомні та хроматидні аберації, пікноз ядра, ураження структури мітохондрій та хлоропластів, зміни проникності мембран – все це типові порушення клітинних структур, що супроводжуються спотворенням функціональної поведінки клітин.

На рівні органів та цілої рослини проявляється зміна архітектоніки. У коренів може посилитися розгалуження, зумовлене гальмуванням зростання осьової частини, збільшенням активності вторинних меристем, формуванням коренів, що утворюються з клітин пероциклу. Порушується утворення кореневих волосків. На будові стебла також відображаються обумовлені радіацією гальмування апікальних меристем та активація сплячих бруньок. Під впливом опромінення можуть змінюватися порядок листорозташування, філлотаксису, виникати фасціації, пухлиноподібні утворення. Іноді змінюється і тип розгалуження. На листі радіобіологічні процеси призводять до виникнення потворних форм будови листової пластинки, зрощення кількох листових зачатків, зміни типу жилкування. Іноді листя скручується внаслідок порушення росту пластинки, через це ж виникає зморшкувате листя. У формуванні репродуктивних органів також відзначаються відхилення, що ведуть до утворення каліцтв.

НУБІП УКРАЇНИ

Опромінення позначається багатьох фізіологічних процесах: прискорюється чи гальмується перебіг онтогенезу, що можна знайти за змінами темпів формоутворення. При сильному пошкодженні меристем зародка наслідком

з'являються цілковито позбавлені освітніх тканин проростки, що отримали найменування «-проростків». Змінюється при опроміненні та вміст

НУБІП УКРАЇНИ

різноманітних речовин у рослині – фосфорних ефірів, цукрів, органічних кислот, амінокислот, нуклеотидів, складніших сполук – пігментів, фітогормонів, речовин вторинного походження. Все це говорить про залежне, зрозуміло, від

значення дози загальну зміну метаболізму, що супроводжує порушення багатьох фізіологічних функцій рослини – дихання, фотосинтезу, біосинтезу багатьох сполук та біогенезу структур.

У всіх цих реакціях опромінених рослин можна вбачати прояви променевого синдрому як поєднання ознак хвороби, променевого патогенезу. Один і той же

НУБІП УКРАЇНИ

синдром може мати різні причини, тому він не тотожний хворобі. Для тваринного організму характерні три основні форми прояву радіаційного синдрому – результат ураження при опроміненні кісткового мозку (кровотворна

система), клітин харчового каналу та центральної нервової системи. Оскільки три перелічені клітинні системи організму пошкоджуються при різних рівнях

НУБІП УКРАЇНИ

опромінення, загибель тварини носить триступінчастий характер, виявляючись зміною трьох синдромів, кожному з яких типові цілком певні клінічні висловлювання.

У широкому наборі ознак променевого ураження рослини також можна

НУБІП УКРАЇНИ

побачити обмежене коло причин, і в цьому відношенні відзначається деяка схожість із радіаційним синдромом у тварин. Справді, причини прояву кістково-мозкового синдрому та ураження харчового каналу полягають у клітинній

загибелі стовбурових тканин кровотворення та внутрішнього епітелію органів

НУБІП УКРАЇНИ

травлення; в основі ураження у рослин лежить загибель клітин освітніх тканин, меристем, властивості яких дозволяють віднести їх до стовбурових клітин. При схожій причині радіаційного синдрому у тварин і рослин наслідки його різні: у

тварин ушкоджуються дві системи, у рослин - більшість органів і тканин, оскільки всі органи рослинного організму з'являються з меристем. Тому повна картина радіаційного синдрому у рослин захоплює широку гаму змін, яка набуває зростаючої різноманітності, коли опромінення виробляють в моменти найбільшої активності меристем.

Встановлюючи шляхи розвитку радіаційного синдрому у рослини, слід виділяти ланцюг подій, що призводять до формування реєстрованої реакції. Для з'ясування природи конкретної складової радіаційного синдрому необхідно виявити вихідне явище, яке ініціює ланцюг реакцій, що розглядається.

Під впливом радіації часто спостерігаються зміни нерівнорозвитку органогенезу рослин. При опроміненні рослини, що вегетує, органогенез порушується внаслідок інактивації меристемних клітин. Однак далеко не просто розкрити причини відхилень органогенезу від норми у опроміненних рослин.

Наприклад, як ув'язати з інактивацією клітин освітлених тканин індукцію чоловічої стерильності, яка часто спостерігається при опроміненні рослин? Вочевидь, у цьому явищі реалізуються ушкодження мейотичних поділів спорогенної тканини.

Для з'ясування причин порушень органогенезу при дії випромінювань використовують калусні культури, у яких органогенез полягає у освіті диференційованих нирок та меристемоїдів.

Виявилось, що під впливом γ -опромінення калусів тютюну, особливо коли останні відрізнялися значним віком, починається формування глибоко диференційованих і проростаючих бруньок. Фактори, що виникають в опроміненних калусах, можуть переноситися шляхом дифузії через живильне середовище до неопроміненних експлантатів, індукуючи в останні органогенез.

Отже, логічно припускати, що в індукції органогенезу беруть участь або продукти радіаційно-хімічних реакцій речовин, що містяться в тканині, або опромінені клітини калусу продукують речовини типу цитокінінів. Були

НУБІП УКРАЇНИ

випробувані індолилоцтова кислота, кінетин, міоінозит, опромінені γ -радіацією в дозах до 250 Гр, щодо їх впливу на органогенез і виявилось, що всі перераховані опромінені речовини, особливо міоінозит, викликали органогенез у калуса тютюну. Раніше показано, що опромінена сахароза також набуває здатності продуктами свого радіаційно-хімічного перетворення індукувати органогенез.

НУБІП УКРАЇНИ

У радіаційній індукції органогенезу рослин слід виділяти як непряму, так і пряму дію випромінювань та ефекти опосередкованого дистанційного впливу випромінювань за допомогою регуляторного впливу, обумовленого зняттям апікального домінування та участю фізіологічно активних речовин, що виникають внаслідок дії радіації на тканині.

НУБІП УКРАЇНИ

При опроміненні рослин спостерігають появу аномально великих гігантських клітин. Такі клітини були виявлені у культурі клітин арахісу (*Arachis hypogaea*).

НУБІП УКРАЇНИ

При опроміненні цієї культури дозою 500 Гр повністю придушувалися клітинні поділу, але зростання клітин розтягненням тривало, у результаті до 50-60 % клітин дорости до великих розмірів, набуваючи вигляду філаментів. Гігантські клітини характеризуються щільною цитоплазмою, збільшеним числом крохмальних зерен та активним циклозисом. Вочевидь, освіту гігантських клітин

НУБІП УКРАЇНИ

відбиває втрату контролю над зростанням розтягуванням. Зазвичай клітини, здатні до поділу, починають цей процес, коли досягають певних розмірів. При опроміненні, коли унеможлиблюється клітинний поділ, знімається обмеження на граничні розміри клітини.

НУБІП УКРАЇНИ

Явище гігантизму клітин, індукованого опроміненням, вивчено також водорості едогонії (*Oedogonium cardiacum*). Гігантські клітини цієї водорості виникають не тільки безпосередньо з опромінених клітин, але і з дочірніх, що утворюються в результаті розподілу опромінених клітин, у яких не виявлялося будь-яких аномалій поділу. Гігантизм клітин пов'язаний із блокуванням мітозу. При

НУБІП УКРАЇНИ

вивченні ультраструктури гігантських клітин водорості виявлено порушення упаковки білкових молекул в ультраструктурах клітин, що, можливо, стосується контролю морфогенезу. Не виключено також, що при дії іонізуючої радіації

НУБІП УКРАЇНИ

ушкоджується цитоскелет, що спричиняє зміну розмірів і створення форми клітини. [17]

При опроміненні насіння рослин у проростків часто спостерігається розвиток морфологічних аномалій – каліцтв окремих органів – листя, стебел. Ці аномалії

НУБІП УКРАЇНИ

найчастіше торкаються перших листочків, примордії яких вже були в зародку насіння і зазнали поразки. Природа цього явища досить проста: частина меристематичних клітин втрачає здатність до поділу, внаслідок чого вони не

генерують клітинні потоки, що перешкоджає нормальному формуванню листової пластинки через виникнення стяжок у місцях, де зупинилася генерація

НУБІП УКРАЇНИ

нових клітин. Надалі листя нових порядків закладення не несуть ознак променевого поразки.

При опроміненні вегетуючих рослин морфологічні аномалії можуть виникати у всіх органів, які в момент опромінення перебували на стадії примордіальних

НУБІП УКРАЇНИ

пагорбів. Всі ці потворності можна розглядати як меристемогенні. Значно рідше виникають потворності як наслідок індукованих опроміненням соматичних мутацій локусів, контролюючих морфогенез. Якщо такі мутації клітини не

елімують під час клітинних поділів, можуть виникати органи зміненої морфологічної структури. Виродства даного типу за своєю природою

НУБІП УКРАЇНИ

відносяться до генетичних.

Вони можуть мати спадковий чи морфозний характер. Морфологічні аномалії виявлено у вищих рослин. Вони у своєрідної формі проявляються у нижчих

НУБІП УКРАЇНИ

рослин, наприклад у трихомних водоростей при опроміненні часто виникають «судомні» форми, що свідчать про втрату частиною клітин здатності до поділу, що обумовлює нормальний вид трихому.

На зовнішності опроміненої рослини позначаються і пухлини, що утворюються під впливом радіації. Було зазначено, що деякі рослини при опроміненні

НУБІП УКРАЇНИ

розвиваються пухлиноподібні освіти. Вони виникають на сім'ядолях, стеблах, платівці базального листя.

Пухлини, що виникають під впливом радіації, відносять до генетичних, походження яких спричинене індукованими дефектами контролю нормального формоутворення. Можливий також розвиток гіперауксинових пухлин, зумовлених надмірністю індолілоцтової кислоти в тканинах рослини. Зовнішнє хронічне опромінення також викликає пухлиноутворення.

Чи здатні індукувати трансформацію клітин рослин і викликати утворення пухлин різні типи випромінювань. Звичайно, під впливом радіації можуть розвиватися у підвищеній нормі та пухлини бактеріального походження. Але в цьому випадку причиною утворення пухлини є ослаблення імунітету під впливом опромінення.

Внаслідок статистичного характеру розподілу поглиненої енергії по клітинах зародка насіння при опроміненні насіння, проростків або вегетуючих рослин ураження геному різних клітин виявляється неоднаковим. Інакше кажучи, опромінення сприяє тому, що клітини освітніх тканин, у тому числі і ініціалі, є сукупністю пошкоджених клітин з різними дефектами генетичного характеру.

Якщо ці ушкодження такі, що розподіл клітини може статися, то під час гістогенезу клітини - носії цих пошкоджень не генерують клітинні лінії і утворюють відповідні сектори у тканини чи органі. Якщо ж індуковані радіацією зміни геному не виключають розподілу клітин, то генеровані останніми покоління клітин входять до складу органів, що формуються, тканин відповідно репродукційної функції тієї чи іншої клітини. В результаті рослина, що виростає з опроміненого насіння, або втеча, що розвинулася з опроміненої нирки,

складається з генетично різних тканин, являючи собою химеру. У зародку насіння клітини потенційно здатні формувати різні тканини рослини. Оскільки, як зазначалося, ушкодження, що у ході опромінення, носять статистичний характер, рослина з опромінених однієї й тієї ж дозою іонізуючої радіації насіння можуть виявитися різними за своєю химерами.

1.3 БОТАНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА І БІОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ АРАХІСУ (ARACHIS HYPOGAEA)

Арахіс культурний, арахіс підземний або земляний горіх (*Arachis hypogaea*) — однорічна трав'яниста рослина роду арахіс родини бобових з прямостоячим або сланким стеблом.

Рослина висотою 25-40 см, з гіллястим стеблом і опушеними прямостоячими листям. Квітки дрібні, в коротких багатоквіткових китицях. Плодоносні квітки розташовані в нижній частині стебел і під землею, у верхній частині розташовуються безплідні квітки. Метеликовий віничок квітки

п'ятипелюстковий, жовтий, жовто-помаранчевий або білий. Після запліднення всі елементи квітки відмирають, а плодоніжка з зав'язю починає рости, повертаючись вниз, заглиблюється в ґрунт, де із зав'язі розвиваються плоди коконоподібної форми. Вони покриті сітчастою оболонкою з одним (або 2-3) перехопленням посередині.

У плодах міститься від однієї до чотирьох насінин, покритих тонкою, рожевою або червонувато-коричневою оболонкою.

Походить з Бразилії та росте у дикому вигляді в Південній Америці. Широко культивується в Індії, Китаї, Африці, США, глибоко ввійшов до культури цих країн. Вирощується також у Закавказзі, Середній Азії, в Україні — в степовій, частково в лісостеповій зонах. В Україні перші посіви були зроблені в районі Одеси.

Цвіте з червня-липня до осені. Плоди дозрівають у вересні-жовтні. Плоди арахісу культурного розвиваються в землі на особливих пагонах (гінофорах), які утворюються з надземних квіток і заривають зав'язь у ґрунт. Боби арахісу їстівні та містять багато білків (24—35 %), олії (43—65 %), вуглеводів (15—20 %) і

вітаміну В1. З арахісу одержують дуже цінну харчову олію, яку застосовують у кондитерській, консервній, маргариновій промисловості. Вижимки також використовують у кондитерській промисловості. Стебла і листки арахісу —

добрый корм для худоби. Урожайність з одного гектару — 10—20 ц бобів і 30—40 ц сіна; при зрошенні — до 40 ц бобів і 50 ц сіна.

Корінь стрижневий, біля основи дуже розгалужений. Основна маса кореневих розгалужень розміщена на глибині до 50 см. Однак частина коренів проникає на

глибину до 160 см і розгалужується в радіальному напрямі до 70 см. Стебло досягає висоти 50—70 см, прямостояче, розгалужене. Листки парнопірчасті, складаються з двох пар супротивно розміщених листочків овальної форми.

Верхній бік їх глянцеватий, нижній — опушений. Квітки метеликового типу, жовті й оранжеві, розміщені в пазухах листків. [18]

Вони трьох типів: 1 — підземні (клеїстогамні) — утворюються на нижніх вузлах центрального стебла на бічних гілках, які знаходяться у ґрунті, такі самоzapилюються ще в бутонах; 2 — надземні (хазмогамні), розміщені в пазухах перших листків, що знаходяться близько від поверхні ґрунту; 3 — надземні, розміщені на значній відстані від поверхні ґрунту (10—20 см), утворюються в пазухах верхніх листків дуже пізно, мають найкоротші трубки і звичайно безплідні.

З квіток першого типу виростають найповноцінніші, рано достигаючі плоди.

Однак більшість бобів утворюється з другого типу квіток. Тривалість життя квітки менше ніж один день. Після запліднення починається інтенсивний поділ меристеми, яка закладається у нижній частині зав'язі, розростання зав'язі й утворення гінофору. Останній швидко

росте спочатку вгору, а потім згинається (приблизно через тиждень) в напрямі до ґрунту і проникає в нього на 8—10 см. Після цього ріст його припиняється, і в ґрунті відбувається наступний розвиток зав'язі у боб. Плід — боб, коконоподібної форми, зовні сітчастий, 2—5 см завдовжки, має від 1 до 6 насінин. Насіння овально-видовжене, складається з оболонки (блідо-рожевої або темно-червоної) і зародка з двома сім'ядолями.

Культурний вид арахісу (*Arachis hypogaea* L.) поділяється на підвиди.

НУБІП УКРАЇНИ

Найпоширеніший арахіс звичайний (*ssp. vulgaris* L. Luz.), що об'єднує сорти і форми з порівняно коротким вегетаційним періодом. До цього виду належать ранньо-, середньостиглі й середньопізні форми. Рослини характеризуються різною галузистістю, розміром і формою листочків, бобів, забарвленням і кількістю насінин у бобах.

НУБІП УКРАЇНИ

Підвид *vulgaris* поділяють на дві групи різновидностей:

- Біло- насінну (*albidoseminea* L. Luz.)
- червононасінну (*rubroseminea* L. Luz.)

НУБІП УКРАЇНИ

які об'єднують кущові форми. Усі селекційні сорти належать до біло- і червоно-насінної груп різновидностей.

Хімічний склад

У насінні арахісу міститься до 53 % олії, до складу якої входять гліцериди арахідової, лігноцеринової, стеаринової, пальмітинової, олеїнової та інших кислот, 37 % білка, алкалоїди арахін і кофарахін, глукеніни, близько 21 % крохмалю, цукор, сапоніни, амінокислоти, пурини, вітаміни В (особливо в шкірці насіння). Є пантотенова кислота, біотин.

НУБІП УКРАЇНИ

Господарське та промислове значення арахісу

Боби арахісу містять багато білків (24-35%), олії (43-65%), вуглеводів (15-20%) і вітаміну В1. З арахісу одержують дуже цінну харчову олію, яку застосовують у кондитерській, консервній, маргариновій галузях. За смаковими якостями вона є

добрим заміником дорогої прованської (оливкової) олії, яку добувають з плодів маслини. Використовується в їжу, для виготовлення вищих сортів консервів, маргарину, а також у кондитерській, консервній, рибній, парфумерній, миловарній галузях.

Вижимки також використовують у кондитерській галузі:

- Арахісова макуха містить до 45% білка, 8% олії і використовується для виготовлення халви, печива, шоколаду, кави, цукерок та інших виробів;

НУБІП УКРАЇНИ

- З насіння арахісу виготовляють понад 60 різних кондитерських виробів, а у підмаженому вигляді використовують як ласощі.

Стебла і листки арахісу можна згодовувати худобі, за кормовими якостями вони не поступаються сіну з люцерни й конюшини. Урожайність з одного гектара –

НУБІП УКРАЇНИ

1,0-2,0 т бобів і 3,0-4,0 т сіна, при зрошенні можна отримати врожай удвічі-втричі більший. Як просапна бобова рослина, арахіс є добрим попередником для багатьох польових культур.

Особливості технології вирощування

НУБІП УКРАЇНИ

Оскільки неєвного матеріалу арахісу на насінневому ринку майже не зустрічається, залишається, при бажанні, вишукувати випадкове насіння у ентузіастів, що займаються вирощуванням малопоширених рослин, та купувати

сирий харчовий арахіс (лушений чи у бобах) невідомого походження. Краще у

НУБІП УКРАЇНИ

такому випадку придбати невелику кількість посадкового матеріалу, але з більшої кількості торгових місць, аби потім виявилося не тільки схоже насіння, а й у майбутньому добрати собі зразки для подальшого продукування, наприклад, найбільш ранні, урожайні, стійкі до певних хвороб, ще з якимись корисними ознаками.

НУБІП УКРАЇНИ

Підготовка ґрунту для сівби аналогічна, як і під картоплю чи овочеві рослини.

Для сівби арахісу використовують як вилушене насіння, так і боби, однак урожайність при сівбі насінням буває вищою на 2-6 кг з сотки ніж при використанні цілих або роздроблених бобів. Перед сівбою насінневий матеріал

НУБІП УКРАЇНИ

знезаражують у розжевому розчині марганцівки.

Сіють арахіс, коли ґрунт на глибині 10 см прогріється до 14-15°C (орієнтуватися можна на строки сівби огірка у відкритий ґрунт). Спосіб сівби широкорядний з

НУБІП УКРАЇНИ

міжряддями 70 см. На 1 м рядка висівають 10-12 насінин або 4-6 нерозлушених бобів. Глибина заорання насіння 6-8 см, за посушливих умов – 8-10 см. Догляд за посівами полягає у підтриманні ґрунту у рихлому, вологому, чистому від бур'янів стані. У період масового цвітіння і утворення гінофор рослини

підгортають, бажано це робити і відразу після випадіння дощу або чергового поливу. Протягом вегетаційного періоду посіви арахісу в залежності від кількості та інтенсивності опадів поливають до 10 разів з інтервалами 10-20 діб,

а в період плодоутворення - частіше. За місяць до збирання врожаю поливання арахісу припиняють. Надмірне зволоження та полив холодною водою може призвести до загнивання насіння у ґрунті. До збирання арахісу приступають,

коли боби легко відокремлюються від гінофор, а насіння - від ступок бобів, і набувають характерного для сорту забарвлення. На Поліссі арахіс доцільно зібрати до середини вересня, до настання вірогідних приморозків, але не пізніше

першої декади жовтня. Спочатку рослини викопують із ґрунту, обтрушують від

землі і укладають у валок. Після просушування боби відділяються від стебел. Затягувати строки збирання не можна, бо свіжі боби й насіння, пошкоджені

приморозками, не тільки втрачають схожість, а стають гіркими й непридатними для вживання в їжу у будь-якому вигляді. Вологі боби сушать при температурі

не більше 40°C потім очищають і зберігають при вологості 8%.

1.4 МІКРОКЛОНАЛЬНЕ РОЗМНОЖЕННЯ

Мікроклональне розмноження – це масове (вегетативне) розмноження рослин в стерильних умовах *in vitro* при забезпеченні оптимального фізико-хімічного балансу, що виключає появу генетично змінених форм.

Культура ізольованих меристем широко використовується для вирішення таких практичних питань, як розмноження рослин, отримання безвірусних зразків та створення банку генетичного матеріалу.

Біологічна суть цього методу базується на регенераційній здатності тотіпотентних рослинних клітин.

РОЗДІЛ ТРЕТІЙ:

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Метою досліджень було вивчити особливості іонізованого мутагенезу та морфогенезу в культурі ізольованих меристем арахісу (*Arachis hypogaea*).

Для досягнення поставлених цілей необхідно було вирішити такі завдання:

- Підібрати насіння арахісу;

- Опромінити насіння гамма-випромінюванням;

- Підібрати склад живильного середовища для введення в культуру *in vitro*

та індукції морфогенезу ізольованих меристем арахісу;

- Розробити основні етапи технології клонального мікророзмноження

арохісу: власне мікророзмноження, укорінення мікропагонів *in vitro* і

адаптація мікророслин до умов *in vivo*.

- Підібрати склад живильного середовища для ризогенезу та вивчити вплив

обробки стимуляторами росту на укорінення зелених живців арахісу (*Arachis hypogaea*).

Для проведення експериментів, та на базі отриманих результатів, мною було

завдання вивчити та описати, культуру арахісу посівного, шляхи його

вирощування та розмноження. Встановити та виявити зміни, що були викликані

шляхом опромінення насіння досліджуваного матеріалу, а також описати їх.

Після чого, ввести культуру *in vitro*, шляхом мікроклонального розмноження.

Встановити пряму залежність радіобіологічних та біотехнологічних методів, що

були застосовані до досліджуваного матеріалу, та порівняти одержані результати

до результатів, що були отримані від контрольних дослідів.

Об'єктом дослідження виступає насіння арахісу посівного, сорту «Валенсія».

Валенсія українська- однорічна прямостояча бобова рослина, висотою до 50-60

сантиметрів, зі стрижневим коренем, який проростає в землю на глибину 120

сантиметрів. Цей сорт арахісу, необхідно саджати в теплий ґрунт, проростання

насіння відбувається при температурі +12-+14 градусів, ідеальною буде температура в +25-+30 градусів, заморозки для нього згубні.

Посів: сіяти арахіс потрібно широкими рядами 60-70 сантиметрів в ширину, з відстанню між кущами 15-20 сантиметрів, на глибину 6-8 сантиметрів.

Посів-травень, збір врожаю- вересень.

Виробник: ТМ «ВЕСНА-АГРО», Україна, 65098, м.Одеса, вул.Привозна,16.

Придатний до: 2025 року, номер партії:EP0921.

Постачальник: «АГРО-МАРКЕТ».



Рис. 1. «ВАЛЕНСІЯ» Українська, Арахіс.

Предмет дослідження: Удосконалення існуючого сорту, шляхом радіобіологічної та біотехнологічної стимуляції, виведення химер даного сорту, а саме для:

- Більшої врожайності;
- Стійкості до кліматичних змін;
- Мінімізувати ризик найпоширеніших захворювань для арахісу на ранніх стадіях проростання, а саме: Суха гнилизна, Церкоспороз, Рамуляріоз,

НУБІП УКРАЇНИ

- Мінімізувати алергеновмісні речовини, що входять до складу арахісу, точніше нейтралізувати їх, при цьому залишаючи всі поживні речовини.

Арахіс є сильним алергеном, містить до 32 різних білків, з яких за меншою мірою 18 здатні викликати алергічну реакцію. Арахіс викликає швидкий розвиток симптомів харчової непереносимості (вже через 1-3 дні після вживання його в їжу). Непереносимість харчових продуктів зустрічається найчастіше порівняно з харчовою алергією та протікає на кшталт алергічних реакцій за участю

НУБІП УКРАЇНИ

специфічних імуноглобулінів E (IgE) (IgG-опосередкованих). При цьому

НУБІП УКРАЇНИ

розвивається прихована харчова алергія – алергія уповільненого типу, що

небезпечніше, оскільки зовнішні клінічні прояви захворювання розвиватимуться повільно (до кількох діб), а нерідко їх може бути тривалий час. Повільно

прогресуючі патологічні процеси в органах і тканинах організму часто можуть

призводити до хронічних захворювань шлунково-кишкового тракту, дихальної,

НУБІП УКРАЇНИ

нервової систем, шкіри, а також можуть негативно вплинути на психічну сферу

(депресія, гіпер-збудливість у дітей).

Матеріали та методи дослідження: Для опромінення було відібрано приблизно

однакового розміру і непошкоджене насіння арахісу, без комах-шкідників.

НУБІП УКРАЇНИ

Всього було відібрано 35 насінь, з яких 30 насінин були розфасовані по 5 штук

у 6 паперових пакетів, і останні 5 були залишені для контрольного дослідження.

НУБІП УКРАЇНИ



НУБІП УКРАЇНИ

Рис. 2. Розфасоване насіння арахісу, для його подальшого опромінення

Опромінення проводилося на базі Національного інституту раку України, у відділі радіотерапії. Для опромінення був використаний лінійний прискорювач.

Опромінення відбувалося шляхом іонізуючої дії гамма-радіації кобальт-60.

Дози для опромінення були обрані наступні: 5-10-15-20-25-30 Гр



Рис. 3. Підготовка матеріалу для аналізу ультраструктури на базі лабораторії приватної аграрної фірми.

Після опромінення, було вилучено 2 сім'ядолі, з кожного пакета для проведення аналізу ультраструктури.

Аналіз ультраструктури: насіння арахісу, опромінені лінійним прискорювачем, були замочені у воді і залишені на 6 годин при 25°C, після чого їх зародковий корінець був вирізаний із сім'ядолі. Після цього, зародковий корінець був двічі зафіксований у 25% глутарсвому дівальдегіді та 1% осьмовій кислоті, після чого покрита лаком із епоксидної смоли, з ацетатом свинцю та уронової кислоти. Після проведення даних маніпуляцій, досліджуваний матеріал був нарізаний на тонкі зрізи та проведено дослідження за допомогою просвічувального електронного мікроскопа H-600.

НУБІП УКРАЇНИ

Решта спромінених насіннь та контрольних насінин були використанні для впровадження в культуру *in vitro*, шляхом міроклонального розмноження.

З початку оброблене насіння було замочене у воді, на ніч з додаванням однієї краплі «епін», для проростання та подальшого висадження в ґрунт.

НУБІП УКРАЇНИ

«Епін» – це штучно створений аналог природного біостимулятора рослин, адаптоген з яскраво вираженою антистресовою дією. Він активує власні захисні функції рослин, виробляючи у них імунітет перед можливими стресовими умовами навколишнього середовища (перепадами температур, посухою, заморозками, зливами тощо).

НУБІП УКРАЇНИ

Через 2 дні, насіння розкрилося і з'явилися корінці. Після цього арахіс був пересаджений в ґрунт, для подальшого дозрівання. Через 4,5 місяці, я дістала

його для проведення розмноження арахісу шляхом міроклонального розмноження.

НУБІП УКРАЇНИ



НУБІП УКРАЇНИ

НУБІП УКРАЇНИ

Рис. 4. Пророщений арахіс

Після цього, досліджуваний матеріал був відібраний для подальшого міроклонального розмноження.

НУБІП УКРАЇНИ

Поліетиленгліколь (ПЕГ) інгібіторна концентрація.

Зрілі соматичні зародки арахісу були простерилізовані у 5% розчині NaOCl впродовж 2-3 хвилин і тричі промиті в дистильовану воду. Для ініціювання

Н ембріогенезних калусів і соматичного ембріогенезу, зародкові коріні, були вирізані зі зрілого соматичного зародку, та прокультивовані на середовищі Мурасига-Скуга (Murashige and Skoog, 1962), доповненому 16 μ піклораму (MS-P16). Культури інкубували в темряві до тих пір, поки вони не ініціювали ембріогенезні калуси (СК) та соматичні ембріогенез (СЕ). Арахісові листівки почали ініціювати (СК) та (СЕ) через 13 тижнів у середовищі MS-P16.

Н Безперервне культивування експлантів на середовищі MS-P16 викликало розвиток змішування (злиття) (СК) і (СЕ) (Edy, 1998; Sulichantini, 1998). Одержанні (СК) та (СЕ) арахісу становили показник для оцінки інгібіторного ефекту (ПЕГ).

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

1. Аналіз ультраструктури

Досліджуючи клітинку зародкового корінця насіння арахісу, опромінену лінійним прискорювачем, можна побачити ядро клітини, його ядереця слабо помітні, деякі жири зливаються в одне або два особливо великих жирових тіла, і форма деяких жирових тіл стає нерегулярними, але частина жирового тіла все ще зберігає початковий стан, всі протеосоми зберігають попередні форми, лише деякі змінюються на неправильні. У дрібній клітині форма дрібноклітинного ядра перетворюється на неправильну, ядереця не може бути видимим. Жироні тіла мають розсіяне розташування, а частина дрібноклітинної спітаксії утворюють розлад. Протеосома не є неушкодженою. Ймовірно, що білок розпадається, перетворюється на якесь дрібне білкове зерно і змішується з жировим тілом.

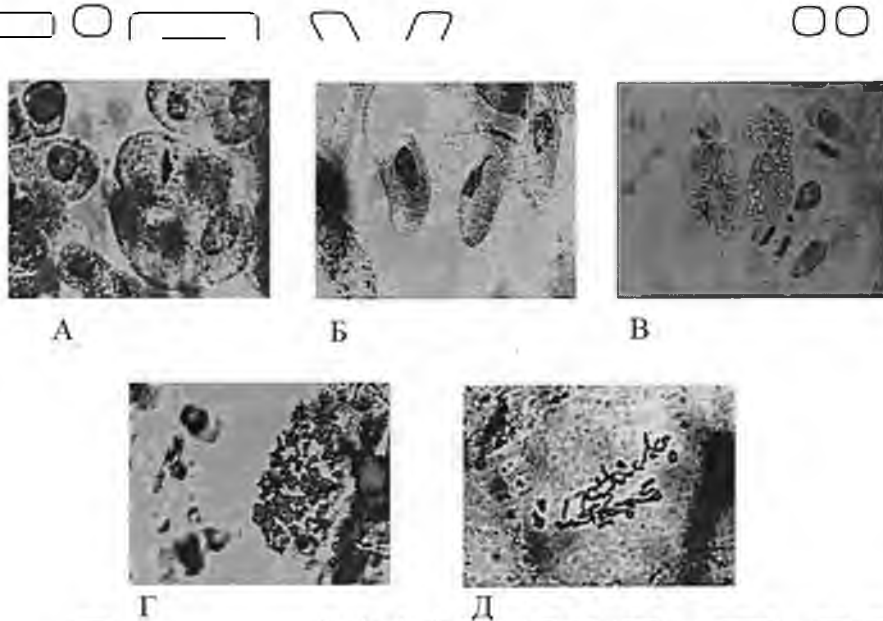


Рисунок. 1. А- рання профазу мітозу; Б- ядро проникає до цитоплазми; В- повільна метафаза; Г- змінність кількості; Д- петля.

2. Вплив гамма-випромінювання на відсоток проростання арахісу

З результатів, що зазначені у таблиці, 1.

Доза	Відсотки	Паростки бічних коренів, середнє значення (15 днів)	Паростки бічних коренів, середнє значення (см)
5 Гр	100 %	15	1.28
10 Гр	100 %	15	1.28
15 Гр	100 %	16	1.30
20 Гр	100 %	14	1.2
25 Гр	90 %	17.4	1.2
30 Гр	90 %	18	1.6
Контроль	85 %	16	1.4

Таблиця. 1.

З таблиці 1 можна знайти, що відсоток проростання арахісу через місяць після посіву (до моменту пікірування) виглядає так, що кількість рослин на одиницю площі у випадках з опроміненням у дозах від 5 до 30 Гр, було дещо більше, ніж у контролі. Проте, зменшення цього показника також відстежується у

показниках 25 та 30 грей. Середня висота опромінених рослин під час висадки в

грунт з великою достовірністю перевищувала висоту контрольних рослин.

Підрахунок числа квітучих рослин на початку цвітіння показав, що в опромінених варіантах квітучих рослин у день підрахунку було в 3-4 рази

більше, ніж у контролі. У фазі масового цвітіння і зав'язування плодів першої

кисті число рослин у випадках з опроміненням також було значно більше, ніж

контрольних ділянках. Отже, рослини, що вирости з насіння, підданих опроміненню, розвивалися дружніше і швидше, ніж контрольні. Проте, 1 рослина з проби де насіння було опромінено у 25 Гр, та 1 рослина де насіння

було опромінено у 30 Гр загинули, ще до моменту вегетації. Натомість у

контролі, загинуло 2 рослини, через появу сухої гнилі. На інших рослинах дане захворювання не зустрічалось.

Вищі дози опромінення ніж 30 Гр, допустимі, проте дози що будуть складати 100 Гр і вище пригнічуватимуть розвиток рослин. Важливо відзначити, що передпосівне опромінення насіння у стимулюючих дозах не чинить шкідливої післядії.

3. Ефекти хромосомної аберації гамма- опромінення на насіння арахісу

З результатів, що зазначалися вище, можна помітити, що відслідковується певна аберація. Проте її відсоток незначний, а саме він відслідковується при опроміненні в 30 Гр.

4. Результати дослідження утворення калусу на зрілому насінні арахісу

Зрілі соматичні зародки арахісу були простерилізовані у 5% розчині NaOCl впродовж 2-3 хвилин і тричі промиті в дистильованою водою. Для ініціювання ембріогенезних калусів і соматичного ембріогенезу, зародкові коріні, були вирізані зі зрілого соматичного зародку, та прокультивовані на середовищі Мурасіга-Скуга (Murashige and Skoog, 1962), доповненому 16 μ піклораму (MS-P16). Культури інкубували в темряві до тих пір, поки вони не ініціювали ембріогенезні калуси (СК) та соматичні ембріогенез (СЕ). Арахісові листівки почали ініціювати (СК) та (СЕ) через 13 тижнів у середовищі MS-P16. Безперервне культивування експлантів на середовищі MS-P16 викликало розвиток змішування (злиття) (СК) і (СЕ) (Edy, 1998; Sulichantini, 1998). Одержанні (СК) та (СЕ) арахісу становили показник для оцінки інгібіторного ефекту (ПЕГ).

Інгібуючий ефект PEG 6000 при 0%, 5%, 10%, 15% та 25% концентрації в середовищі MS-P16 на ріст і проліферацію СК та СЕ був задіяний наступним шляхом, як показано в таблиці:

Доза (Гр)	5	10	15	20	25	30
Концентрація (%)	0	5	10	10	10	25

НУБІП України

Концентрація (%)	0	5	10	15	20	25
------------------	---	---	----	----	----	----

Таблиця 2

НУБІП України

Кожна дослідна одиниця складалась з п'яти клубнів СК арахісу, культивованих в одному культуральному флаконі (250 мл), що містить 25 мл середовища MS-P16. Кожен клубень СК містив від 8 до 10 СЕ.

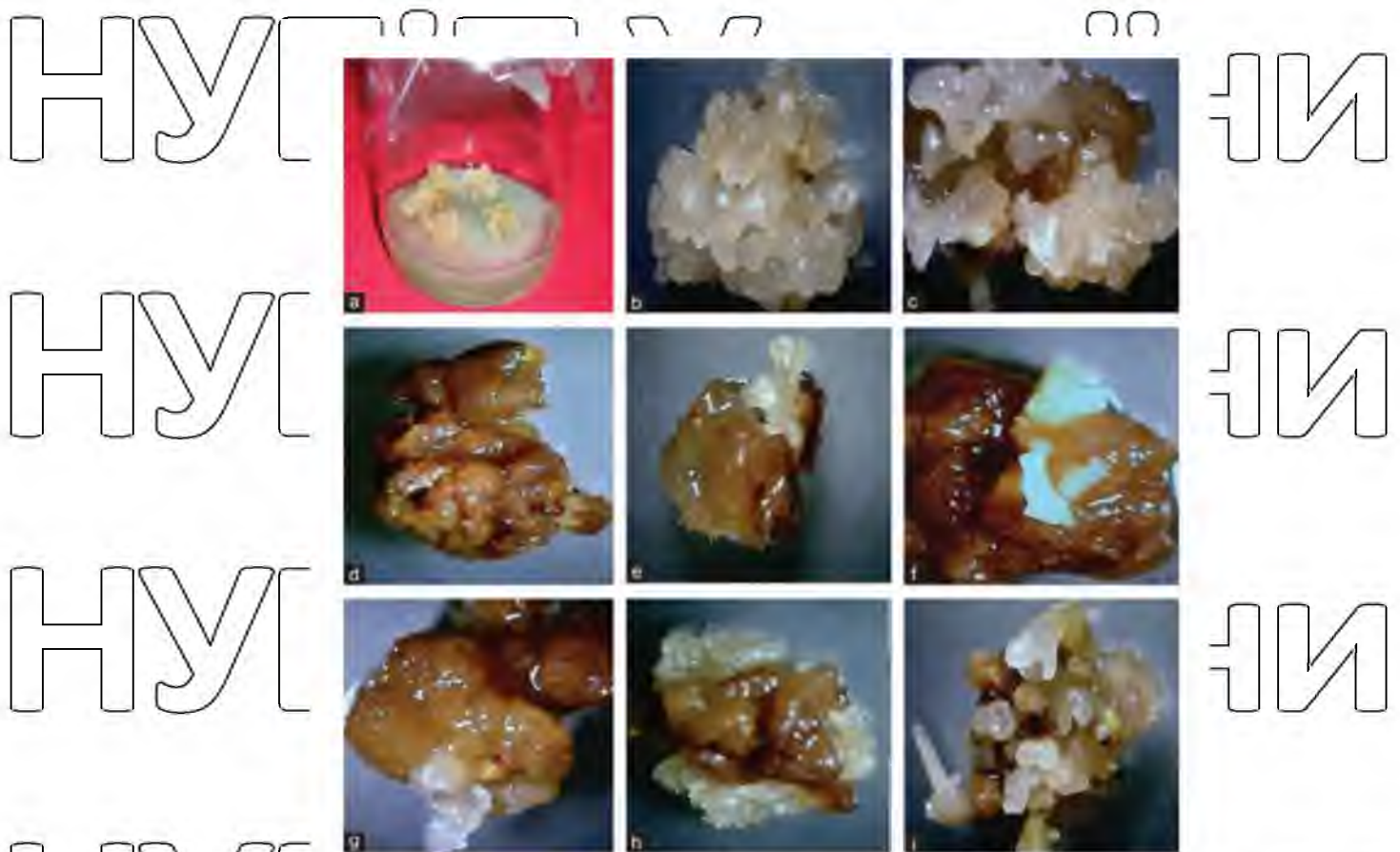


Рисунок 3. Репрезентативні реакції ембріогенних калусів арахісу (ЕС) і соматичних ембріонів (SEs), культивованих на середовищі MS-P16 з або без додавання PEG 6000. (а) Проліферація ембріогенних калусів арахісу (ЕС) і соматичних ембріонів (SEs) на плівці, що плаває на рідкому середовищі MS-P16. (б) Представник ЕС і SE, вирощених на середовищах без PEG (PEG 0%), і (с) на 5% PEG. Відповіді ЕС та SE на селективне середовище доповнений 10% PEG

(d) Арахіс cv. «15 Гр», (e) Арахіс cv. «20 Гр», і (f) Арахіс cv. «25 Гр.» Відповіді ЕК та СЕ щодо селективності середовище, доповнене 15% ПЕГ: (г) Арахіс cv. «15 Гр», (h) Арахіс cv. «20» і (i) сорт арахісу. «25» відповідно.

У цьому дослідженні використовувався рідкий MS-P16, доповнений ПЕГ

середовищем для проліферації арахісу СК та ЕС, оскільки агар не застигає в присутності високої концентрації PEG 6000. Для стерилізації середовища був використаний автоклав, зі стандартними методами стерилізації при 120 °С, 1,5 кг/см².

Щоб експланти не потонули, пліт, покритий одношаровим фільтрувальним папером, а саме ватманом, фільтрувальний папір 6 класу.

Ватман був зверху рідкого середовища, СК та СЕ арахісу були закладені зверху фільтра і культивуються на середовищі, загалом тримісячний період. Кожного місяця, ЕК переносяться на свіже середовище. [19]

Очікування: на разі завершується 2 місяць культивування, як результат відсоток виживання ЕК та СЕ та кількість проліферовані СЕ через три місяці на селективному середовищі будуть записані. Концентрація доданого ПЕГ повинна інгібувати щонайменше 50% виживання культури або проліферації СЕ, по відношенню до ПЕГ з концентрацією 0%.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Influence of genotype on in vitro multiplication potential of *Arachis hypogaea*
L.PINTU BANERJEE¹, SHARMISTHAMAITY¹, SUDHANSU S. MAIT²,

NIRMALYA BANERJEE¹*¹Department of Botany, Visva-Bharati University,
Santiniketan- 731235, India ²Department of Statistics, Visva-Bharati University,
Santiniketan- 731235, India

2. НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ ІНСТИТУТ
ОВОЧІВНИЦТВА І БАШТАННИЦТВА НААН ДОСЛІДНА СТАНЦІЯ «МАЯК»

ІОБ НААН «ОСОБЛИВОСТІ ТЕХНОЛОГІЇ ВИРОЩУВАННЯ
МАЛОПОНИРЕНИХ ОВОЧЕВИХ РОСЛИН» За редакцією доктора
сільськогосподарських наук С.І. Корнієнка/Вінниця 2015

3. УДК 581.143.6:57.086.833 КАЛЮСОУТВОРЕННЯ ТА ОРГАНОГЕНЕЗ IN
VITRO І. І. КОНВАЛЮК, Л. П. МОЖИЛЕВСЬКА, В. А. КУНАХ², Інститут
молекулярної біології і генетики НАН України, Україна, 03143, м. Київ, вул.
Академіка Заболотного, 150

4. Dietary supplements : a framework for evaluating safety / Committee on the
Framework for Evaluating the Safety of Dietary Supplements, Food and Nutrition
Board [and] Board on Life Sciences. p. ; cm. Includes bibliographical references and
index. ISBN 0-309-09110-1

5. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with
tobacco tissue cultures // *Physiol. Plant.* – 1962. – V. 15, N 4. – P. 473-497.

6. Park Y-S. Implementation in conifers somatic embryogenesis in clonal forestry:
technical requirement and development considerations // *Ann. For. Sci.* – 2002. – V.
59. – P. 651-656.

7. Plant cell, tissue and organ culture: fundamental methods / Eds. O.L. Gamborg,
G.C. Phillips. – Berlin: Springer-Verlag, 1995. – 358 p.

2. Гродзинський Д.М., Ю. Кутлахмедов Ю.О., Міхеев О.М., Родіна В.В.,

Кравець О.П., Шмідта Ю.В. МЕТОДИ УПРАВЛІННЯ РАДІОСМІСТЮ
ЕКОСИСТЕМ // Під редакцією академіка Д.М. Гродзинського. - Київ:
Фітосоціоцентр, 2006. - 172 с.

3. Погребняк П. С. ОБЩЕЕ ЛЕСОВОДСТВО . 2-е, перераб. изд. М.,
«Колос», 1968. 440 с. (Учебники и учеб. пособия для высш. с.-х. учеб.
заведений).

4. Щеглов А.И. Биогеохимия техногенных радионуклидов лесных
экосистемах: По материалам 10-летних исследований зоне влияния
аварии на ЧАЭС. - М.: Наука, 2000. - 268 с.

5. Тюрюканова Э.Б. Почвенно-геохимические аспекты загрязнения
биосферы радионуклидами (на примере стронция 90): Автореф. дис. д-ра
биол. наук. - М.: Изд. - во Моск. ун-та, 1982. - 45 с.

6. Елиашевич Н.В. Накопление радионуклидов хозяйственно полезными
растениями / Н.В. Елиашевич, Т.Г. Иванова // 1-й Всесоюзн. радиологич.
съезд: тез. докл. - Пушино, 1989. - С. 441 - 442.

7. Краснов В.П. Радиоактивное загрязнение цезием-137 лекарственных
растений Украинского Полесья/ В.П. Краснов, А.А. Орлов, С.П.

Ирклиенко и др. // Растительные ресурсы. - 1996. - Т. 32, вып. 3. - С. 6 -
43.

8. Г. М. Козубов, А. И. Таскаев // Радиобиологические и
радиозоологические исследования древесных растений. - СПб. Наука,
1994. - 256с.

9. Алексахин Р. М., Нарышкин М. А. Миграция радионуклидов в лесных

биогеоценозах. М.: Наука, 1977. - 144 с.

37

10. Болух В.А., Вирченко В.М. Накопление радионуклидов мхами

Украинского Полесья // Украинский бот. журн. 1994. Т. 51, № 4.

11. Щербов Б.Л. Лесные пожары как геохимическая угроза. Наука из первых рук. 2011. №3 (39). с. 120-127.

12. Бобров В.А., Кренделев Ф.П., Гофман А.М. Гамма-спектрометрический анализ в камере низкого фона. Новосибирск, Наука, 1975, 60с.

13. Израэль Ю.А., Имшенник Е.В., Квасникова Е.В. и др. Радиационное загрязнение территории России глобальными выпадениями от ядерных

взрывов и Чернобыльскими выпадениями. Карта по состоянию на 90-ые годы XX века. // «Радиоактивность при ядерных взрывах и авариях».

Труды международной конференции, Москва 24-26 апреля 2000, т.1.

Санкт-Петербург, Гидрометеиздат, 2000, с.138-152. 5. Щербов Б.Л.

Лесные

14. Алексахин Р.М. Поведение Cs-137 в системе почва – растение и влияние

удобрений на накопление радионуклидов в урожае трав / Р.М. Алексахин,

И.Т. Моисеев // Агрехимия. – 1992. – № 8. – С. 127-137.

15. Ведення сільського господарства на радіоактивно забруднених територіях

Житомирської області та їх комплексна реабілітація на 2004-2010 роки:

Методичні рекомендації. — Житомир, 2004. – 95 с.

16. Гетьманчук А.І. Акумуляція ^{137}Cs дикорослими рослинами в лісах

Правобережного Лісостепу України / А.І.Гетьманчук, В.П.Краснов,

О.О. Орлов // Науковий вісник НАУ. – Київ, 2004. – Вип. 71. – С. 40-45.

17. Допустимі рівні вмісту радіонуклідів ^{137}Cs і ^{90}Sr у продуктах харчування та питній воді (ДР-06). – К., 2006. – 26с.

18. Допустимі рівні вмісту радіонуклідів ^{137}Cs і ^{90}Sr у продуктах харчування та питній воді (ДР-97). – К., 1997. – 34с

19. Іванов Є.А. Радіоекологічні дослідження: Навч. посібник / Є.А. Іванов. –

Львів: Видавничий центр ЛНУ імені Івана Франка, 2004. – 149 с.

38

20. Мойсієнко В. В. Питома активність ^{137}Cs у дикорослих лікарських рослинах Житомирського Полісся / В. В. Мойсієнко / Вісник наук. пр.

ВНАУ, Випуск 8(48). – 2011. – С. 103–108. Випуск 2, 2015 9100

21. Мойсієнко В.В. Екологічний стан лікарських рослин в умовах природних фітоценозів Житомирщини ЖНАЕУ / Житомир 25 років після аварії на

ЧАЕС // Вісник ЖНАЕУ. – № 1 (30). – т. 1. – 2012. – С.96-103.

22. Мойсієнко В.В. Лікарські рослини / В. В. Мойсієнко. – Житомир, 2012. – 397 с. 10.

23. Пристер Б.С. Вертикальная и горизонтальная миграции радионуклидов в агроландшафтах зоны аварии на Чернобыльской АЭС / Б. С. Пристер,

Д. В. Перецелятнікова, Н. П. Омеляненко // Докл. Академіи наук

України. – 1993. – № 1. – С. 163–170.

24. Рибальченко С.Л. Ресурси дикорослих лікарських рослин та

вирощування нагідок лікарських (*Calendula officinalis* L.) в умовах

радіоактивного забруднення Житомирського Полісся / С.Л. Рибальченко //

Автореф. дис... канд. с.-х. наук. – Житомир, 2005. – 18 с. 12.

25. Турубара О.В. Лікарські рослини Лівобережного Полісся: стан ресурсів, перспективи використання і охорона / О.В. Турубара // Автореф. дис...

канд. біол. наук. – Київ, 2010. – 20 с.

26. Кондратюк С. Я. Різноманіття лишайників Карпат – Lichen diversity of Carpathian Mts / С. Я. Кондратюк, У. Бельчик // Укр. ботан. журн. - 2001. -

58, № 5. - С. 570-578. - Бібліогр.: 46 назв. - англ.

27. Кондратюк С. Я., Наврошкая И. Л. К изучению содержания радионуклидов в лишайниках Украины // Тез. Доклад радиобиолог.

Съезда. – Пушино, 1993. – с. 487-488.

28. Кутлахмедов Ю. О., В. І. Корогодін, В. К. Кольтовер. Основи

радіоекології. навч. посіб. - К.: Вища школа, 2003. - 319 с.

29. Антропогенная радионуклидная аномалия и растения / [Д. М.

Гродзинский, Ю. А. Кутлахмедов, А. Н. Михеев и др.]. К. : Лыбидь, 1991.

160 с.

39

30. Гродзинский Д.М., Войтенко В.П., Кутлахмедов Ю.А., Кольтовер В.К.

Надежность и старение биологических систем. Киев: Наукова думка,

1987.

31. Методология и методы исследования радионуклидов и других

техногенных загрязнителей в наземных и водных экосистемах / Ю. А.

Кутлахмедов, В. И. Корогодін, Г. Г. Поликарпов та ін.]. К. : Медэкол,

УкрРНПФ Медицина-Екологія”, 1997. 44 с.

32. Кутлахмедов Ю. А., Поликарпов Г. П., Корогодин В. И. 1988. Принципы и методы оценки радиоемкости экосистем. Эвристичность радиобиологии. Киев: Наук. думка. С. 109–115.

33. Karlen G. Seasonal variation in the activity concentration of ^{137}Cs in Swedish roe-deer and in their daily intake / G. Karlen, K.J. Johanson and Bergström // Environ. Radioactivity. – 1991. – № 14. – С. 91-103.

34. Johanson K.J. Radiocaesium in wildlife of a forest ecosystem in Central Sweden / K.J. Johanson, R. Bergstrom, S. Von Bothmer, G. Karlen // Transfer of radionuclides in natural and semi-natural environments. – Elsevier Applied Science, London & New York. – 1992. – Pp. 183-193.

35. Hrabovskyy V., Dzendzelyuk O. Investigations of radionuclide contamination in soils of Shatsk National Natural Park (Volyn district, Ukraine) during 1994–2000 // Acta Agrophysika. – 2002. – 67. – P. 105–114.

36. Hrabovskyy V., Dzendzelyuk O., Katerynychuk I., Yu. Furgala. Monitoring of radionuclides contamination of soils in Shatsk National Natural Park (Volyn region, Ukraine) during 1994–2001. // J. Environ. Radioactivity. 2004. VIII. 72, № 1–2. – С. 25–33.

37. In-vitro selection of drought tolerant peanut embryogenic calli on medium containing polyethylene glycol and regeneration of drought tolerant plants
Article in Emirates Journal of Food and Agriculture · June 2015

DOI: 10.9755/ejfa.2015.04.062

38. Голосов И.М. Применение лучистой энергии в животноводстве и ветеринарии. Лениздат, 1971. С. 175.

39. Мирзоев Э.Б., Кобялко В.О., Иванов В.Л. и др. О

физиологическом состоянии супоросных свиноматок

при профилактическом воздействии электромагнитных излучений в области ультрафиолетового и инфракрасного диапазонов // Сельскохозяйственная

биология. 2004. № 6. С. 107-109.

40. Мирзоев Э.Б., Кобялко В.О., Зейналов А.А. и др. О

возможности применения электромагнитных излучений ультрафиолетового и инфракрасного диапазонов в технологиях содержания супоросных свиноматок //

Сельскохозяйственная биология. 2008. № 2.

С. 78-82.

41. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики: Справочник

/ Под ред. И.П. Кондрахина. М.: Колосс, 2004. 520 с.

42. Обухов А. И., Плеханова И.О. Атомно-абсорбционный анализ в почвенно-биологических исследованиях. М.: МГУ, 1991. 184 с.

43. Саруханов В.Я., Исамов Н.Н., Мирзоев Э.Б., Кобялко В.О. Модификация метода определения бактерицидной активности крови сельскохозяйственных животных // Сельскохозяйственная биология. 2007.

№ 2. С. 119-122.

44. Саруханов В.Я., Исамов Н.Н., Царин П.Г. и др.

Метод определения бета-литической активности

крови сельскохозяйственных животных // Сельскохозяйственная биология. 2007.

№ 4. С. 123-125.

НУБІП України

НУБІП України

ДОДАТОК
МАЛЮНОК 1
А.1



Кларенс Спіс проводить екскурсію до свого бункеру

МАЛЮНОК 2

А.2

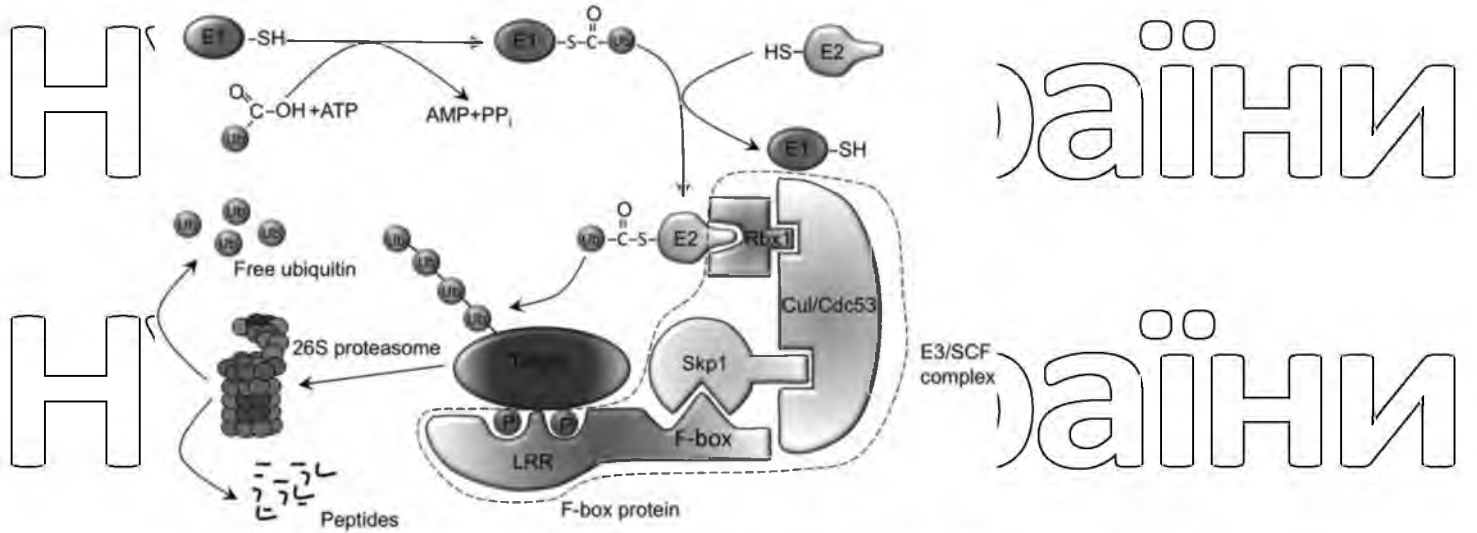


Наука в Україні

Атомний сад в місті Хітатиомія.

МАЛЮНОК 3

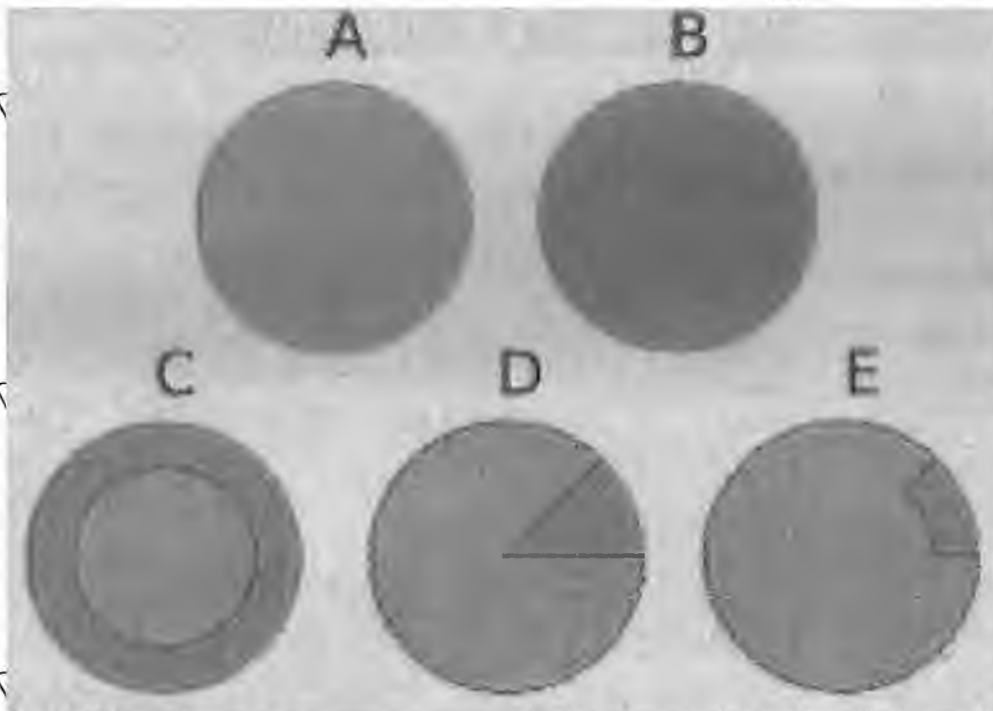
A.3



F-box protein (SCF) E3-лігаза-опосередкована убіквітин-протеасомна система деградації білка

МАЛЮНОК 4

A.4



НУБІП України

Схема взаємного розташування тканин у щеплених химерах різних типів. А, В – батьківські рослини. С – периклінальної, Д – секторіальної, Е – мериклінальної химерах.

НУБІП України

МАЛЮНОК 5

А.5



НУБІП України

Мутаційна основа та феногіповий прояв периклінальної (А), мериклінальної (В) та секторальної (С-Д) мозаїк.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

ТАБЛИЦЯ А.6 Експериментальна та садівнича корисність різних химерних типів.

Класифікація	Експериментальна корисність	Корисність для садівництва	Переваги	Недоліки
Міжвидові химери	Досліджуйте програми розвитку клітинної автономності проти неклітинних автономних програм розвитку, відстежуйте переміщення неклітинної автономної молекулярної інформації	Фізично досліджуйте бажані ознаки окремих видів, виробляйте цінні в садівництві сорти (наприклад, <i>Cytisus Adami</i> та «Bizzaria»)	Унікальна можливість досліджувати координати розвитку в дуже гетерогенному контексті	Може бути важко викликати утворення міжвидової химери
Карти імовірності секторів	Відстежуйте лінії тканин та ідентифікуйте номер клітини-засновника	не застосовується	Технологічно простий і може застосовуватися до	Ця техніка вимагає мутагенезу і, як правило, не забезпечує достатньої

				<p>не модельних видів</p>	<p>роздільної здатності для відстеження ліній на клітинному рівні</p>
<p>Індукована секторна генетична мозаїка</p>	<p>Визначте, коли і де функціонує ген під час розвитку рослин</p>	<p>не застосовується</p>	<p>Дозволяє аналізувати функцію гена без будь-яких знань про послідовність</p>	<p>Ген, що цікавить, повинен бути пов'язаний з простежуваним маркером</p>	<p>(наприклад, ген біосинтезу хлорофілу або каротиноїду), і аналіз секторальних рослин може бути</p>
				<p>генів</p>	<p>трудомістким</p>
<p>Мозаїка для редагування генів CRISPR/Cas9</p>	<p>Розберіть функцію генів у певному місці</p>	<p>не застосовується</p>	<p>Дозволяє точно налаштувати аналіз генетичної мозаїки</p>	<p>Метод може зайняти багато часу – мозаїка проявляється в поколінні F1</p>	
<p>Одногенні трансгенні маркерні системи</p>	<p>Відстежуйте лінії тканин та ідентифікуйте номер клітини-засновника</p>	<p>не застосовується</p>	<p>Подібно до традиційного імовірнісного картування, але не вимагає рентгенівського або</p>	<p>транспозонного мутагенезу</p>	<p>Необхідно розробити методи для видів, що цікавлять.</p>

<p>НУБІП</p> <p>Трансгенні маркерні системи «Веселка»</p>	<p>Створить складні карти клітинного походження тканин і органів</p>	<p>не застосовується</p>	<p>Дозволяє відстежувати кілька ліній клітин в межах одного організму</p>	<p>Необхідно розробити трансгенні методи для видів, що цікавлять.</p>
<p>НУБІП</p> <p>Трансгенні системи комплемент ації</p>	<p>Виділити функцію автономного гена клітини від неклітинної автономної функції гена специфічним для клітини способом та дослідити функцію гена мутацій, смертельних для розвитку</p>	<p>не застосовується</p>	<p>Дозволяє елегантні, специфічні для клітин дослідження функції генів</p>	<p>Необхідно розробити трансгенні методи для видів, що цікавлять.</p>
<p>НУБІП</p> <p>Цитохімери</p>	<p>Цитологічно відстежуйте лінії клітин</p>	<p>не застосовується</p>	<p>Дозволяє роздільну здатність відстеження клітинної лінії на клітинному рівні, і технологію можна застосувати до немодельних видів</p>	<p>Аналіз надзвичайно трудомісткий</p>
<p>НУБІП</p> <p>Соматичні й викид</p>	<p>Пов'язати цитологічні ознаки з ознаками зрілої рослини;</p>	<p>Виробляти подвійні гаплоїдні лінії розведення (тільки</p>	<p>Один з небагатьох методів, що пов'язують цитологічні ознаки з</p>	<p>Може використовуватися лише для генотипів, які піддаються соматичного</p>

НУБІП	виробляють генетичну мозаїку	метод (СЕННЗ)	ознаками зрілої рослини	викиду (наприклад, мутанти на нівгамі), генотипи, що містять кільцеві хромосоми, і трансгенні лінії (СЕННЗ)
НУБІП	не застосовується	Виробляти нові садові сорти	Виникає спонтанно	Зазвичай це трапляється нечасто, дуже мало або взагалі не контролюється, які ознаки змінюються
НУБІП	Дає мутацію бруньки			

МАЛЮНОК 7
А.7

НУБІП України



НУБІП України

НУБІП України

Арахіс, або земляний горіх (*Arachis hypogaea* L.)

НУБІП України