

УДК 633.52.577.21:632.165

БИОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ЯРОВОГО РАПСА С ГЕНАМИ ЖИВОТНОГО *сур11А1* И БАКТЕРИАЛЬНОГО *bar* ПРОИСХОЖДЕНИЯ

А.М. ШИШЛОВА-СОКОЛОВСКАЯ¹, Н.А. КАРТЕЛЬ¹, М.П. ШИШЛОВ²

¹Государственное научное учреждение «Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси»

220072 Минск, ул. Академическая, 27, Республика Беларусь

e-mail: s_anastasia78@mail.ru

²Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по земледелию 222160 Минская обл., Жодино, ул. Тимирязева, 1, Республика Беларусь

В результате *Agrobacterium*-опосредованной трансформации рапса получены трансгенные растения, несущие в геноме гены *сур11А1* и *bar*. Растения характеризовались увеличением длины главной кисти, массы 1000 семян, количества стручков и боковых побегов главной кисти в семенных поколениях по сравнению с контрольными. При этом признаки массы 1000 семян и высота растений оказались наименее изменчивыми.

Ключевые слова: *Brassica napus* L. var. *oleifera* DC., трансгенные растения, биометрический анализ, ген *сур11А1*, ген *bar*.

Современный уровень развития мирового агропромышленного комплекса и растущие потребности населения предъявляют все более высокие требования к качеству сортов и селекционным формам, требуются сорта с хорошей продуктивностью, устойчивые к гербицидам, вредителям и болезням, дающие высококачественную продукцию. Для получения растений с новыми ценными признаками наряду с традиционными методами селекции ученые применяют методы современной генетической инженерии. В последние годы для создания трансгенных растений с новыми ценными качествами используются гетерологичные гены млекопитающих, а именно гены цитохромов P450. Японскими учеными показано, что в результате встраивания генов *сур1А1*, *сур2В6*, *сур2С19* цитохрома P450 человека в геномы риса и картофеля трансгенные растения приобретают устойчивость к гербициду и способность к фиторемедиации [14, 15]. Экспрессия гена *сур1А1* из печени крысы в растительном геноме вызывает устойчивость к гербицидам, синтезированным на основе мочевины и фенилмочевины [25]. Созданы трансгенные растения тополя с геном *сур2Е1* кроличьего цитохрома P450, устойчивые к трихлорэтилену, хлороформу, четыреххлористому углероду и обладающие способностью к фиторемедиации [9].

В нашей работе мы использовали митохондриальный ген из коры надпочечников быка *сур11А1*, кодирующий цитохром P450scс. Цитохром P450scс является ключевым ферментом стероидогенеза в тканях животных, отщепляет боковую цепь холестерина и превращает его в прегнено-

лон [8, 20, 21, 24, 27]. Основные стадии метаболизма стероидных гормонов животных и brassinостероидов растений сходны [7, 10, 12, 17, 19, 22]. Показано, что в процессе биосинтеза сердечных гликозидов в растениях наперстянки образуется прогестерон [18, 23]. Он вовлекается в процесс регуляции роста и развития растений [13], а экзогенный прогестерон индуцирует цветение арабидопсиса, стимулирует рост пыльцевых трубок табака в культуре *in vitro* [26]. В экспериментах по трансформации растений табака геном *sup11A1* показано его влияние на рост, развитие и физиолого-биохимические характеристики растений [4].

В этой связи представляют большой интерес трансгенные растения с геном *sup11A1* цитохрома P450_{scs}, созданные на основе культур, имеющих хозяйственную ценность, таких как яровой рапс. Рапс является одной из основных масличных культур в мире и занимает второе место по производству и потреблению масла и семян после сои.

Ранее нами получены трансгенные растения ярового рапса, несущие в своем геноме кДНК гена *sup11A1* цитохрома P450_{scs} и ген *bar* [5, 6]. Целью настоящего исследования было изучение влияния гена *sup11A1* на геном трансгенных растений ярового рапса посредством биометрического анализа, включающего статистическую обработку ряда морфологических признаков и элементов продуктивности.

Методика

Объектом исследований служили 525 растений ярового рапса T₁–T₃ поколений 8 трансгенных линий (*Brassica napus* L. var. *oleifera* DC.), созданных на основе сорта Магнат белорусской селекции. Трансгенные линии рапса получены в результате *Agrobacterium*-опосредованной трансформации с использованием вектора pCB093, несущего два гена: кДНК гена *sup11A1* и ген *bar* [5]. Интеграцию и транскрипционную активность трансгенов в реципиентном геноме детектировали в T₁–T₃ поколениях методами ПЦР и ОТ-ПЦР, согласно ранее описанным методикам [6].

Биотест на устойчивость к глюфосинату аммония. Тестирование трансгенных растений в T₁, T₂, T₃ поколениях на устойчивость к глюфосинату аммония (гербицид баста) проведено в условиях тепличного комплекса НПЦ НАН Беларуси по земледелию. Высаживали по 150 семян каждой линии в T₁–T₃ поколениях, растения обрабатывали гербицидом баста в фазе 2–3 настоящих листочков. Растения, оказавшиеся устойчивыми к глюфосинату аммония, далее подвергали молекулярно-генетическому и биометрическому анализам.

Биометрический анализ трансгенных линий ярового рапса. Для изучения влияния гена *sup11A1* на рост и развитие трансгенных растений рапса, обладающих в T₁–T₃ поколениях устойчивостью к гербициду, нами был выбран ряд признаков: высота растения, длина и количество боковых побегов главной кисти, а также элементы структуры семенной продуктивности — масса 1000 семян, количество стручков на главной кисти. Высота растения, длина и количество боковых побегов главной кисти считаются признаками второстепенными, так как зависят от агроклиматических условий. Показатели данных признаков учитывали в фазу полного созревания стручка у растений за трехлетний период. Экспериментальные данные обработаны статистически с использованием вариационного анализа, для определения достоверности различий применен двухвыборочный *t*-критерий Стьюдента. Связь

между изучаемыми фенотипическими признаками оценена с помощью корреляционного анализа.

Результаты и обсуждение

В результате изучения данных за трехлетний период выявлены статистически значимые различия по всем анализируемым признакам в T_1 поколении у всех трансгенных линий, в T_2 и T_3 достоверные различия наблюдались лишь у части линий. Трансгенные растения превосходили контрольные по большинству показателей изучаемых признаков.

В T_1 — T_3 поколениях морфометрические показатели продуктивности оценены на 8 трансгенных линиях. Из 8 проанализированных трансгенных линий рапса линии Vn9/93/3 и Vn9/93/2 в T_1 поколении обладали самыми низкими морфометрическими показателями, а в T_2 поколении не дали жизнеспособного семенного потомства. Это объясняется таким явлением, как гетеростилия, которое наблюдается у трансформантов в поколениях и приводит к полной или частичной стерильности растений [3].

Биометрическим анализом высоты растения, длины и количества боковых побегов главной кисти в T_1 поколении выявлены достоверные различия в оценке дескриптивных статистик трансгенных линий, а именно, высота трансгенных растений в основном не превышала высоту контрольных, а по отдельным трансгенным линиям имела отрицательную динамику (табл. 1). Так, все трансгенные линии в T_1 поколении не превышали контроль и являлись короткостебельными. В T_2 поколении статистически значимые различия наблюдались только у линий Vn9/93/6, Vn9/93/13, которые также были короткостебельными и не превышали по высоте контрольные. В T_3 поколении достоверное увеличение высоты растения отмечено у 3 из 6 трансгенных линий, а именно Vn9/93/6, Vn9/93/9, Vn9/93/21, из которых показатель высоты линии Vn9/93/21 был максимальным и превышал контрольное значение на 10,7 см.

Динамика длины главной кисти в выборке трансгенных растений имела в основном положительную тенденцию (табл. 2). Так, в T_1 длина главной кисти трансгенных растений увеличивалась как внутри выборки, так и по отношению к контролю. В T_1 поколении длина главной кисти трансгенных растений увеличилась с 39,0 (линия Vn9/93/6) до 48,0 (Vn9/93/14), что в среднем в выборке составило 37,5 см, для контроля данный показатель равнялся 31,7 см. Достоверное удлинение главной кисти трансгенных линий по сравнению с контролем в среднем составило 5,8 см (18,3 %). Однако в T_2 поколении достоверных различий между выборками не выявлено, в T_3 — достоверное удлинение главной кисти по отношению к контролю наблюдалось только у линии Vn9/93/21, оно равнялось 5,8 см (14,2 %).

Количество боковых побегов в поколениях достоверно возрастало в среднем по линиям от 6,3 побега (линия Vn9/93/6 в T_1) до 8,3 побега (линия Vn9/93/21 в T_3 поколении) (табл. 3). В процентном отношении эти изменения при сравнении показателей по выборкам составили в среднем 18, 12 и 33 % соответственно в поколениях T_1 , T_2 и T_3 .

Анализом данных, представленных в табл. 4, выявлено достоверное увеличение количества стручков главной кисти за трехлетний период исследований, а именно, в T_1 поколении количество стручков увеличилось в среднем с 15,1 стручка для линии Vn9/93/2 до 46,9 стручка для

БИОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ

ТАБЛИЦА 1. Высота растений рапса в поколениях T_1 – T_3 (см)

Линия	Поколение		
	T_1	T_2	T_3
Контроль	112,2±2,84 ($n = 25$)	100,0±1,34 ($n = 18$)	98,8±1,69 ($n = 18$)
σ	14,2	5,68	7,18
V	12,6	5,7	7,3
Bn9/93/2	72,8±3,17* ($n = 25$)	–	–
σ	15,57		
V	21,3		
Bn9/93/3	70,6±2,39* ($n = 64$)	–	–
σ	19,23		
V	27,4		
Bn9/93/6	86,4±1,71* ($n = 37$)	85,9±2,62* ($n = 29$)	90,8±2,18* ($n = 13$)
σ	10,40	14,08	7,86
V	12,0	16,4	8,6
Bn9/93/9	97,9±1,43* ($n = 50$)	100,0±2,21 ($n = 30$)	107,1±1,54* ($n = 14$)
σ	10,09	12,10	5,78
V	10,3	12,1	5,4
Bn9/93/13	96,6±1,59* ($n = 40$)	94,5±2,04* ($n = 30$)	105,0±3,64 ($n = 12$)
σ	10,05	11,16	12,61
V	10,7	11,8	12,0
Bn9/93/14	98,6±1,88* ($n = 30$)	96,7±2,24 ($n = 30$)	105,4±4,23 ($n = 11$)
σ	10,28	12,27	14,04
V	10,4	12,7	13,3
Bn9/93/19	103,1±2,53* ($n = 38$)	100,2±1,79 ($n = 30$)	102,9±2,17 ($n = 12$)
σ	15,58	9,78	7,52
V	15,1	9,8	7,3
Bn9/93/21	103,3±2,24* ($n = 30$)	103,2±2,29 ($n = 30$)	109,5±2,28* ($n = 11$)
σ	12,28	12,55	7,56
V	11,9	12,2	6,9

Примечание. Здесь и в табл. 2–5: n — количество растений; σ — стандартное отклонение; V — коэффициент вариации.

*Достоверно при $p_{0,05}$.

линии Bn9/93/13. В T_2 поколении достоверные отличия по этому показателю наблюдались у трех линий: Bn9/93/6, Bn9/93/13, Bn9/93/21. Линия Bn9/93/13 в данном поколении обладала максимальным количеством стручков — 46. В T_3 поколении статистически значимое среднее увеличение данного показателя по отношению к контролю отмечено лишь у линии Bn9/93/21 (41,9 стручка). Однако, если рассматривать изменение данного признака при сравнении двух выборок (контроль и трансгенные линии) в процентном отношении, то наблюдается обратная тенденция, т.е. количество стручков уменьшается, а именно: 31,6 % в T_1 поколении, 12,8 % — в T_2 , 8 % — в T_3 .

ТАБЛИЦА 2. Длина главной кисти растений рапса в поколениях T_1 — T_3 (см)

Линия	Поколение		
	T_1	T_2	T_3
Контроль	31,7±1,70 ($n = 25$)	40,9±2,20 ($n = 18$)	40,7±2,62 ($n = 18$)
σ	8,53	9,33	11,11
V	26,9	22,8	27,3
Vn9/93/2	22,5±2,14* ($n = 25$)	—	—
σ	10,48		
V	46,5		
Vn9/93/3	23,8±1,43* ($n = 64$)	—	—
σ	11,41		
V	48,0		
Vn9/93/6	39,0±1,79* ($n = 37$)	39,8±2,19* ($n = 29$)	39,9±2,07* ($n = 13$)
σ	10,86	11,80	7,48
V	27,9	29,7	18,8
Vn9/93/9	44,5±1,53* ($n = 50$)	42,1±2,18 ($n = 30$)	49,7±1,92 ($n = 14$)
σ	10,82	11,91	7,19
V	24,3	28,4	14,5
Vn9/93/13	46,4±1,88* ($n = 40$)	46,2±2,81 ($n = 30$)	33,3±2,74 ($n = 12$)
σ	11,88	15,37	9,49
V	25,6	33,3	28,4
Vn9/93/14	48,0±2,06* ($n = 30$)	45,4±2,30 ($n = 30$)	38,0±1,22 ($n = 11$)
σ	11,26	12,61	4,07
V	23,5	27,7	10,7
Vn9/93/19	28,5±1,22 ($n = 38$)	45,2±2,16 ($n = 30$)	39,8±2,26 ($n = 12$)
σ	7,51	11,85	7,84
V	26,3	26,2	19,7
Vn9/93/21	47,5±2,02* ($n = 30$)	41,9±1,95 ($n = 30$)	46,5±2,15* ($n = 11$)
σ	11,03	10,65	7,13
V	23,2	25,4	15,3

Признаком, существенно влияющим на продуктивность и урожайность, считается масса 1000 семян. При анализе динамики данного показателя за три года выявлена тенденция увеличения масс 1000 семян как внутри выборки трансгенных линий, так и по отношению к контролю (табл. 5). Масса 1000 семян в среднем в выборке трансгенных линий возросла с 2,9 (линия Vn9/93/14 в T_1 поколении) до 4,2 г (линия Vn9/93/9 в T_3 поколении). При сравнении значений данного показателя с контрольными установлено, что трансгенные растения превосходят контроль на 27,7 % в T_1 , на 18,8 в T_2 и на 26 % в T_3 поколениях. По динамике массы 1000 семян в каждой линии можно отметить линии Vn9/93/9, Vn9/93/6, которые обладают максимальными значениями этого показателя в разных поколениях.

БИОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ

ТАБЛИЦА 3. Количество боковых побегов главной кисти растений рапса в поколениях T_1 – T_3 (шт.)

Линия	Поклоение		
	T_1	T_2	T_3
Контроль	5,0±0,15 ($n = 25$)	5,8±0,33 ($n = 18$)	5,4±0,35 ($n = 18$)
σ	0,76	1,38	1,50
V	11,6	23,7	27,8
Bn9/93/2	3,9±0,22* ($n = 25$)	–	–
σ	1,11		
V	28,6		
Bn9/93/3	3,8±0,23* ($n = 64$)	–	–
σ	1,82		
V	47,6		
Bn9/93/6	6,3±0,24* ($n = 37$)	5,9±0,24 ($n = 9$)	7,0±0,27* ($n = 13$)
σ	1,50	1,32	1,02
V	24,0	22,4	14,3
Bn9/93/9	6,4±0,26* ($n = 50$)	6,8±0,33* ($n = 30$)	7,6±0,34* ($n = 14$)
σ	1,88	1,85	1,28
V	29,4	27,4	16,9
Bn9/93/13	6,9±0,27* ($n = 40$)	7,0±0,28* ($n = 30$)	6,9±0,64* ($n = 12$)
σ	1,74	1,58	2,23
V%	25,4	22,7	32,3
Bn9/93/14	6,7±0,34* ($n = 30$)	7,4±0,37* ($n = 30$)	6,5±0,38* ($n = 11$)
σ	1,88	2,07	1,26
V	28,1	27,9	19,7
Bn9/93/19	6,8±0,51* ($n = 38$)	6,8±0,29* ($n = 30$)	6,9±0,39* ($n = 12$)
σ	3,17	1,64	1,37
V	46,3	24,1	19,8
Bn9/93/21	7,0±0,46* ($n = 30$)	6,8±0,33* ($n = 30$)	8,3±0,52* ($n = 11$)
σ	2,52	1,81	1,73
V	36,1	26,6	21,0

Явление неоднородности изменений морфологических показателей признаков продуктивности в поколениях с точки зрения взаимодействия трансген-реципиентный геном можно объяснить таким явлением, как сайленсинг. Интеграция Т-ДНК в растительный геном происходит по типу негомологичной рекомбинации и не всегда обеспечивает стабильное фенотипическое проявление признака. Такая генетическая нестабильность может быть связана как с делецией или мутацией введенной ДНК [11, 16], так и с инактивацией трансгена [1]. Механизмы замолкания трансгена бывают различными, но основной из них — инактивация экспрессии трансгенов на транскрипционном и на посттранскрипционном уровнях [2].

ТАБЛИЦА 4. Количество стручков главной кисти растений рапса в поколениях T_1 – T_3 (шт.)

Линия	Поколение		
	T_1	T_2	T_3
Контроль	26,9±1,07 ($n = 25$)	39,7±1,30 ($n = 18$)	38,8±1,52 ($n = 18$)
σ	5,33	5,51	6,46
V	19,8	13,9	16,7
Bn9/93/2	15,1±2,11* ($n = 25$)	–	–
σ	8,44		
V	55,8		
Bn9/93/3	15,8±1,29* ($n = 64$)	–	–
σ	8,37		
V	52,8		
Bn9/93/6	44,9±1,86* ($n = 37$)	44,6±2,01* ($n = 29$)	39,2±1,35 ($n = 13$)
σ	11,32	10,84	4,88
V	25,2	24,3	12,4
Bn9/93/9	42,6±1,57* ($n = 50$)	43,9±2,14 ($n = 25$)	37,8±1,78 ($n = 14$)
σ	11,09	11,74	6,66
V	25,8	26,7	17,6
Bn9/93/13	46,9±1,53* ($n = 40$)	46,0±2,00* ($n = 30$)	41,7±2,26 ($n = 12$)
σ	9,68	10,90	7,85
V	20,6	23,9	18,8
Bn9/93/14	40,1±1,88* ($n = 30$)	39,6±1,95 ($n = 30$)	42,4±3,2 ($n = 11$)
σ	10,30	10,68	10,8
V	25,8	26,9	25,4
Bn9/93/19	35,5±1,63* ($n = 38$)	37,0±2,02 ($n = 30$)	38,4±1,94 ($n = 12$)
σ	9,42	11,06	6,74
V	26,5	29,9	17,6
Bn9/93/21	42,6±7,07* ($n = 30$)	43,7±1,63* ($n = 30$)	41,9±2,27* ($n = 11$)
σ	7,07	8,95	7,55
V	16,6	20,5	18,0

Одним из основных статистических показателей, используемых в селекционном процессе для создания сортообразцов, гибридных линий и сортов, является коэффициент вариации. Анализом коэффициентов вариации за три года (T_1 – T_3 поколения) установлено, что наиболее константные и наименее изменчивые признаки — высота растения и масса 1000 семян. Коэффициенты вариации этих признаков находились примерно на одном уровне в T_1 – T_3 поколениях и колебались от 5,4 (Bn9/93/9) до 28,3 % (Bn9/93/6). Среди изученных линий наиболее стабильными и обладающими минимальными коэффициентами вариации по данным морфологическим признакам в поколениях оказались линии Bn9/93/13, Bn9/93/14, Bn9/93/19.

Для оценки степени взаимосвязи изучаемых признаков мы применили корреляционный анализ. По коэффициентам корреляции феноти-

БИОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ

ТАБЛИЦА 5. Масса 1000 семян растений рапса в поколениях T_1 – T_3 (г)

Линия	Поколение		
	T_1	T_2	T_3
Контроль	2,7±0,08 (n = 25)	3,2±0,12 (n = 18)	3,2±0,11 (n = 18)
σ	0,42	0,50	0,47
V	6,66	7,6	14,7
Bn9/93/2	3,5±0,09* (n = 25)	–	–
σ	0,34		
V	9,97		
Bn9/93/3	3,6±0,83* (n = 64)	–	–
σ	0,51		
V	14,2		
Bn9/93/6	3,6±0,08* (n = 37)	4,0±0,08* (n = 29)	3,6±0,28 (n = 13)
σ	0,45	0,38	1,01
V	12,8	9,8	28,3
Bn9/93/9	3,5±0,07* (n = 50)	3,8±0,13* (n = 30)	4,2±0,06* (n = 14)
σ	0,40	0,65	0,25
V	11,7	14,1	5,5
Bn9/93/13	3,4±0,07* (n = 40)	3,7±0,11* (n = 30)	3,2±0,06 (n = 12)
σ	0,44	0,61	0,23
V	12,9	16,8	7/6
Bn9/93/14	2,9±0,86* (n = 30)	3,9±0,08* (n = 30)	3,3±0,08 (n = 11)
σ	1,40	0,46	0,29
V	11,9	12,1	8,9
Bn9/93/19	3,9±0,85* (n = 38)	3,6±0,11* (n = 30)	4,0±0,11* (n = 12)
σ	0,48	0,55	0,40
V	12,43	15,6	10,0
Bn9/93/21	3,2±0,09* (n = 30)	3,7±0,10* (n = 30)	3,9±0,09* (n = 11)
σ	0,47	0,51	0,32
V	14,7	15,6	8,0

пических признаков у трансгенных растений рапса выявлена сильная положительная связь между такими парами признаков, как высота растения и длина главной кисти, высота растения и количество стручков на главной кисти, длина главной кисти и количество стручков. Коэффициенты корреляции между высотой растения и длиной главной кисти находились в поколении T_1 в диапазоне 0,28–0,75, в T_2 — 0,46–0,88, в T_3 — 0,08–0,78. Зависимость между высотой растения и количеством стручков в поколениях составила от 0,3 до 0,7, для контрольной группы такая зависимость не выявлена. Коэффициент корреляции между длиной главной кисти и количеством стручков в группе трансгенных растений находился в диапазоне 0,12 <r> 0,52 в T_2 поколении, –0,47 <r> 0,70 в T_3 , в T_1 поколении данная зависимость не уста-

новлена. Анализ корреляционной связи зависимости массы 1000 семян от остальных элементов продуктивности показал, что существует тесная положительная корреляция, которая составила 0,30 $\langle r \rangle$ 0,86 для T₁ поколения, 0,40 $\langle r \rangle$ 0,52 для T₂, 0,40 $\langle r \rangle$ 0,70 для T₃. Максимальными коэффициентами корреляции в поколениях по большинству признаков обладала линия Вп9/93/21. Кроме того, данная линия характеризовалась максимальными значениями как признаков архитектуры, так и элементов структуры урожайности в различных поколениях, что может быть связано с влиянием транскрипционной активности гетерологичных генов *сyp11A1* цитохрома P450_{scs}, *bar* на геном рапса.

В экспериментах на модельном объекте *Nicotiana tabacum* получены данные, подтверждающие влияние кДНК гена *сyp11A1* цитохрома P450_{scs} на рост и развитие растения [4]. А именно, с использованием статистического анализа признаков, определяющих продуктивность, а также ряда биохимических анализов было показано, что трансгенные растения табака T₃ поколения начинают цвести и образовывать семенные коробочки в среднем на 2 недели раньше, чем в контрольном варианте, превосходят контрольные растения по продуктивности, содержанию растворимых и нерастворимых углеводов и белков.

Таким образом, мы впервые установили влияние кДНК митохондриального гена *сyp11A1* цитохрома P450_{scs} быка на реципиентный геном, а именно стабильное увеличение массы 1000 семян в T₁–T₃ поколениях, а также показателей главной кисти (длины, количества стручков и боковых побегов).

1. Курочкина С.Д., Картель Н.А. Генетическая трансформация растений, процессы рекомбинации и регуляции экспрессии генов у трансгенных растений // Молекул. генет. микробиология, вирусология. — 1998. — 4. — С. 3–12.
2. Маренкова Т.В., Дейнеко Е.В. Трансгенные растения как модели для изучения эпигенетической регуляции экспрессии генов // Вавиловский журн. генетики и селекции. — 2015. — 19, № 5. — С. 545–551.
3. Ралдугина Г.Н., Горелова С.В., Кожемякина А.В. Стабильность наследования трансгенов в растениях рапса // Физиология растений. — 2000. — 47, № 3. — С. 437–445.
4. Спивак С.Г., Бердичивец И.Н., Ярмолинский Д.Г. и др. Создание и характеристика трансгенных растений табака (*Nicotiana tabacum* L.), экспрессирующих кДНК *СYP11A1* цитохрома P450_{scs} // Генетика. — 2009. — 45, № 9. — С. 1217–1224.
5. Шишлова А.М., Картель Н.А., Сахно Л.А. и др. Введение кДНК *СYP11A1* цитохрома P450_{scs} животного происхождения в растения рапса // Молекул. и прикл. генетика: сб. науч. тр. Ин-та генетики и цитологии НАН Беларуси; редкол. А.В. Кильчевский (гл. ред.) [и др.] — Минск. — 2010. — 11. — С. 12–19.
6. Шишлова-Соколовская А.М., Кучук Н.В., Шишлов М.П., Картель Н.А. Получение трансгенных растений ярового рапса (*Brassica napus* var. *L. olifera* DC.), экспрессирующих кДНК *СYP11A1* цитохрома P450_{scs} животного происхождения // Весті НАНБ. Сер. біял. навук. — 2011. — 1. — С. 27–33.
7. Bauer P., Munkert J., Brydzijn M. et al. Highly conserved progesterone 5 β -reductase genes (P5 β R) from 5 β -cardenolide-free and 5 β -cardenolide-producing angiosperms // Phytochemistry. — 2010. — 71. — P. 1495–1505.
8. Chashchin V.L., Lapko V.N., Adamovich T.B. et al. Primary structure of the cholesterol side-chain cleavage cytochrome P-450 from bovine adrenocortical mitochondria and some aspects of its functioning on a structural level // Biochim. Biophys. Acta. — 1986. — 871. — P. 217–223.
9. Doty S.L., James C.A., Moore A.L. et al. Enhanced phytoremediation of volatile environmental pollutants with transgenic trees // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2007. — 104, N 43. — P. 16816–16821.
10. Finsterbuch A., Lindemann P., Grimm R. Δ 5-3 β -hydroxysteroid dehydrogenase from *Digitalis lanata* Ehrh. — a multifunctional enzyme in steroid metabolism? // Planta. — 1999. — 209. — P. 478–486.

11. Hanisch ten Cate C.H., Loonen Annelies E.H.M., Ottaviani M.P. et al. Frequent spontaneous deletions of Ri T-DNA in *Agrobacterium rhizogenes* transformed potato roots and regenerated plants // Plant Mol. Biol. — 1990. — **14**. — P. 735–741.
12. Herl V., Fischer G., Reva V.A. et al. The *VEP1* gene (At4g24220) encodes a short-chain dehydrogenase/reductase with 3-oxo- $\Delta^{4,5}$ -steroid 5 β -reductase activity in *Arabidopsis thaliana* L. // Biochimie. — 2009. — **91**. — P. 517–525.
13. Iino M., Nomura T., Tanaki Y. et al. Progesterone: its occurrence in plants and involvement in plant growth // Phytochemistry. — 2007. — **68**. — P. 1664–1673.
14. Inui H., Shiota N., Motoi Y. et al. Metabolism of herbicides and other chemicals in human cytochrome P450 species and in transgenic potato plants co-expressing human *CYP1A1*, *CYP2B6* and *CYP2C19* // J. Pestic Sci. — 2001. — **26**. — P. 28–40.
15. Kawahigashi H., Hirose S., Ohkawa H., Ohkawa Y. Transgenic rice plants expressing human P450 genes involved in xenobiotic metabolism for phytoremediation // J. Mol. Microbiol. Biotechnol. — 2008. — **15**. — P. 212–219.
16. Kim Y.S., Lee J., Jun S.-H. Frequent occurrence of transgene deletion in transgenic plants // Mol. Cells. — 1998. — **8**. — P. 705–708.
17. Li J., Biswas M.G., Chao A. et al. Conservation of function between mammalian and plant steroid 5 α -reductases // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1997. — **94**. — P. 3554–3559.
18. Lindemann P., Luckner M. Biosynthesis of pregnane derivatives in somatic embryos of *Digitalis lanata* // Phytochemistry. — 1997. — **46**, N 3. — P. 507–513.
19. Miller W.L., Auchus R.J. The molecular biology, biochemistry, and physiology of human steroidogenesis and its disorder // Endocrine Rev. — 2011. — **32**, N 4. — P. 579.
20. Morohashi K., Fujii-Kuriyama Y., Okada Y. et al. Molecular cloning and nucleotide sequence of cDNA for mRNA of mitochondrial cytochrome P450(SCC) of bovine adrenal cortex // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1984. — **8**. — P. 4647–4651.
21. Payne A.H., Hales D.B. Overview of steroidogenic enzymes in the pathway from cholesterol to active steroid hormones // Endocrine Rev. — 2004. — **25**. — P. 947–970.
22. Russell D.W., Wilson J.D. Steroid 5 alpha-reductase: two genes / two enzymes // Annu. Rev. Biochem. — 1994. — **63**. — P. 25–61.
23. Simersky R., Novak O., Morris D.A. et al. Identification and quantification of several mammalian steroid hormones in plants by UPLC-MS/MS // J. Plant Growth Regul. — 2009. — **28**. — P. 125–136.
24. Werck-Reichert D., Bak S., Paquette S.M. Cytochromes P450 // Arabidopsis book. Rockville: Amer. Society Plant Biol., 2002. — P. 1–28.
25. Yamada T., Ohashi Y., Ohsima M. et al. Inducible cross-tolerance to herbicides in transgenic potato plants with the rat *CYP1A1* gene // Theor. Appl. Genet. — 2002. — **104**, N 2. — P. 308–314.
26. Ylstra B., Touraev A., Brinkmann A.T.O. et al. Steroid hormones stimulate germination and tube growth of in vitro matured tobacco pollen // Plant Physiol. — 1995. — **107**. — P. 639–643.
27. Ziegler G.A., Vonrhein C., Schulz G.E., Hanukoglu I. Structures of adrenodoxin reductase and adrenodoxin support shuttle mechanism of electron transfer in mitochondrial P450 systems // Mol. Steroidogenesis: Univ. Acad. Press. — Tokyo, Japan, 2000. — P. 61–64.

Получено 20.01.2017

БИОМЕТРИЧНИЙ АНАЛІЗ ТРАНСГЕННИХ РОСЛИН ЯРОГО РІПАКУ З ГЕНАМИ ТВАРИННОГО *sup11A1* І БАКТЕРІАЛЬНОГО *bar* ПОХОДЖЕННЯ

А.М. Шишлова-Соколовська¹, М.О. Картель¹, М.П. Шишлов²

¹Державний науковий заклад «Інститут генетики і цитології Національної академії наук Білорусі», Мінськ

²Науково-практичний центр Національної академії наук Білорусі із землеробства, Жодіно

У результаті *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації ріпаку отримано трансгенні рослини, що несли в геномі гени *sup11A1* і *bar*. Рослини характеризувались збільшенням довжини головної китиці, маси 1000 насінин, кількості стручків і бічних пагонів головної китиці в насінневих поколіннях порівняно з контрольними. При цьому ознаки маси 1000 насінин і висота рослин виявились найменш мінливими.

BIOMETRIC ANALYSIS OF TRANSGENIC PLANTS OF SPRING RAPE WITH *cyp11A1*
ANIMAL ORIGIN GENE AND BACTERIAL *bar*

A.M. Shishlova-Sokolovskaya¹, [N.A. Kartel]¹, M.P. Shishlov²

¹State Scientific Institution «Institute of Genetics and Cytology, National Academy of Sciences of Belarus»

27 Akademicheskaya St., Minsk, 220072, Belarus

²Scientific and Practical Centre for Arable Farming, National Academy of Sciences of Belarus

1 Timiryazeva St., Zhodino, 222160, Belarus

The transgenic plants, carriers of *cyp11A1* gene and *bar* gene in the genome, were received as a result of *Agrobacterium*-mediated rape transformation. The plants were characterized by the increase of the main truss (raceme) length, 1000 seeds' mass, a number of pods and side shoots of the main truss (raceme) in generations compared to control. At the same time, the traits of 1000 seeds' mass and plant height had the lowest variability.

Key words: *Brassica napus* L. var. *oleifera* DC., transgenic plants, biometric analysis, gene *cyp11A1*, gene *bar*.